



Effets sanitaires de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau

Nathalie Costet-Deiber

► To cite this version:

Nathalie Costet-Deiber. Effets sanitaires de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau. Médecine humaine et pathologie. Université de Rennes, 2013. Français. NNT: 2013REN1B008 . tel-00927735

HAL Id: tel-00927735

<https://theses.hal.science/tel-00927735>

Submitted on 13 Jan 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie et Sciences de la Santé

Ecole doctorale VAS

présentée par

Nathalie Costet-Deiber

Préparée à l'unité de recherches INSERM U1085 IRSET
(Institut de Recherche sur la Santé, l'Environnement et le Travail)

Effets sanitaires de l'exposition aux sous- produits de chloration de l'eau

**Thèse soutenue à Rennes
le 19 septembre 2013**

devant le jury composé de :

Pascal GUENEL

Directeur de Recherches, INSERM U1018, Villejuif / *rapporteur*

Dr Virginie MIGEOT

MCU-PH, HDR, Université de Poitiers / *rapporteur*

Rémy SLAMA

Chargé de Recherches, HDR, INSERM U823, Grenoble /
examineur

Jérémy BOTTON

MCU-PH, Faculté de Pharmacie de Paris Sud / *examineur*

Pr Jean-François VIEL

PU-PH, Université de Rennes 1 / *président*

Sylvaine CORDIER

Directrice de Recherches INSERM, U1085, Rennes / *directrice
de thèse*

REMERCIEMENTS

Je remercie ma directrice de thèse Sylvaine Cordier, qui m'a chaleureusement accueillie voici 6 ans déjà dans son équipe à Rennes et ainsi permis d'ancrer ma troisième vie professionnelle dans le domaine de l'épidémiologie environnementale, domaine dans lequel les attentes de la société sont si importantes et les challenges méthodologiques si nombreux. Merci Sylvaine de m'avoir proposé de réaliser cette thèse et de m'avoir accordé quelques précieuses semaines pour rédiger ce mémoire. Je tiens à saluer ici ton engagement pour la formation et la promotion des membres de ton équipe, qu'ils soient chercheurs ou ingénieurs.

Je remercie Bernard Jégou, directeur de l'Institut de Recherches en Santé Environnement Travail (IRSET), d'avoir soutenu mon arrivée dans son laboratoire, même si ce n'est (officiellement) qu'à mi-temps. Ma deuxième famille professionnelle, le Laboratoire du Traitement du Signal et de l'Image (LTSI) de Rennes ne m'a pas beaucoup vue ces derniers mois de rédaction ... Je tiens à remercier chaleureusement le directeur du LTSI, Lotfi Senhadji, pour la générosité et la confiance dont il a fait preuve dans la gestion de mon affectation partagée entre ces deux laboratoires de recherches INSERM.

Merci à Virginie Migeot et Pascal Guénel, d'avoir accepté de consacrer du temps à la lecture critique de ce mémoire et d'en être les rapporteurs. Merci aux autres membres du jury, Rémy Slama, Jérémie Botton et Jean-François Viel, pour leur précieuse contribution à l'évaluation de ce travail.

L'étude sur le cancer de la vessie a beaucoup bénéficié de son intégration dans le projet européen HiWate qui a été pour moi l'occasion de découvrir l'ambiance multiculturelle très stimulante des projets européens et de travailler plus particulièrement avec Cristina Villanueva, Manolis Kogevinas et Mark Nieuwenhuijsen du CREAL à Barcelone. Un très grand merci à Cristina pour le temps qu'elle m'a accordé en début de projet pour la transmission et le décryptage des données de l'analyse poolée.

L'étude sur les effets de l'exposition prénatale aux sous-produits de chloration s'est déroulée au sein de la cohorte PELAGIE, dont je salue chaleureusement les chevilles ouvrières (de luxe !) que sont Christine Monfort, Cécile Chevrier, Ronan Garlantézec, Florence Rouget. Merci à tous d'avoir répondu à toutes mes questions d'ordre médical, statistique, informatique ...

En ce qui concerne plus spécifiquement l'estimation des expositions aux sous-produits de chloration, je remercie chaleureusement Bertrand Gagnière, médecin à l'ARS de Rennes qui m'a mis le pied à l'étrier pour le calcul des expositions prénatales aux THMs. Grâce à lui, nous avons eu accès à la base de données réglementaires de qualité de l'eau SISE-Eaux. Merci à monsieur Daniel Marchand, ingénieur à la DRASS d'avoir pris le temps de m'expliquer les rouages de la base SISE-Eaux et d'avoir procédé aux extractions nécessaires. Pour la partie modélisation, merci au professeur Michel Carbon (Université de Rennes 2, Université Laval, Québec d'avoir accepté de regarder de plus près les données « mitées et secouées » de cette base (même si finalement elles l'étaient un peu trop ...) Merci à Marc Le Vaillant (CNRS, Villejuif) de m'avoir épaulée dans la mise en œuvre des modèles hiérarchiques sur ces mêmes données. Cela a été l'occasion de retravailler ensemble, après des années très agréables partagées au Kremlin-Bicêtre dans une vie antérieure. Merci enfin à Véronique Sébille (Professeur à l'Université de Nantes), membre de mon comité de thèse, qui m'a aussi accordé du temps pour discuter de ces mêmes modèles.

Enfin, un énorme merci à ma famille

Merci à Laurent pour le regard porté sur mon travail et l'importance qu'il y accorde, ses encouragements et son affection. Merci à Lalie et Matthieu d'avoir bien grandi et d'avoir ainsi pu accepter mon manque de disponibilité pendant ces 3 derniers mois. Ils ont guetté avec impatience le mot FIN de « cette sacrée aventure ». J'espère qu'elle ne leur aura pas donné une image trop effrayante des études universitaires qui les attendent (peut-être) ...

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS RELATIVES A LA THESE

ARTICLES PUBLIES

Costet N, Villanueva CM, Jaakkola JJK, Kogevinas M, Cantor KP, King WD, Lynch C, Nieuwenhuijsen MJ, Cordier S. Water disinfection by-products and bladder cancer: is there a European specificity? A pooled and meta-analysis of European case-control studies. *Occup Environ Med*. 2011 May;68(5):379-85.

Costet N, Garlantézec R, Monfort C, Rouget F, Gagnière B, Chevrier C, Cordier S. Environmental and urinary markers of prenatal exposure to drinking water disinfection by-products, fetal growth, and gestational duration in the PELAGIE birth cohort (Brittany, France, 2002-2006). *Am J Epidemiol*. 2012 Feb 15;175(4):263-75.

COMMUNICATIONS ORALES

Costet N, Garlantézec R, Monfort C, Rouget F, Gagnière B, Chevrier C, Cordier S. Association between a urinary biomarker of prenatal exposure to disinfection by-products and adverse pregnancy outcome. ISEE 2011, Barcelona (Abstract 00631)

SEMINAIRES

Effets sanitaires de l'exposition aux sous-produits de la chloration de l'eau. Séminaire de l'équipe EA 4275 "Biostatistique, Recherche Clinique et Mesures Subjectives en Santé », Faculté de Pharmacie, Nantes, 24 avril 2009.

Reconstitution des expositions aux THM dans la cohorte Pélagie à partir des données du contrôle sanitaire de l'eau, Séminaire de recherches IRSET, EHESP, Rennes, 20 avril 2010.

Association between a urinary biomarker of prenatal exposure to disinfection by-products and adverse pregnancy outcomes. Séminaire de recherches IRSET, EHESP, Rennes, 3 octobre 2011.

Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse dans la cohorte Pélagie: exemple d'utilisation de la base de données SISE-Eaux en épidémiologie analytique. Séminaire du DESP, Villejuif, France, 18 juin 2012.

LETTRE-INFO PELAGIE

Les sous-produits de la chloration de l'eau potentiellement responsables de retard de croissance intra-utérine, Lettre d'information N°5, mars 2012.

LISTE DES ACRONYMES-ABREVIATIONS

AA : Amines Aromatiques ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ARCH : Autoregressive conditional heteroskedasticity (modèle d'analyse de séries temporelles)
ARIMA : Autoregressive integrated moving average (modèle d'analyse de séries temporelles)
BDCM : Bromodichlorométhane
BRF : Bromoforme
CHO : Chinese Hamster Ovary cells
CLF : Chloroforme
COT : Carbone organique total
CT : Concentration du désinfectant x Temps de contact
DBAA : Acide bromoacétique
DBCM : Dibromochlorométhane
DCAA : Acide dichloroacétique
DCAN : Dichloroacétonitrile
DDR : Date des dernières règles
DGS : Direction Générale de la Santé
DOM-TOM : Département et Territoire d'Outre-Mer
EDEN : Etude de cohorte sur les Déterminants pré- et post- natals précoces du développement psychomoteur et de la santé de l'ENfant
ENSAI : Ecole Nationale de la Statistique et de l'Analyse de l'Information (Bruz)
EUROCAT : European Surveillance of Congenital Anomalies
GAM : Generalized Additive Model
HAA : Acide halo-acétique
HAA5 : Somme des 5 HAAs (acides chloro-, bromo-,dichloro-, dibromo-, trichloro-acétiques)
HAA9 : Somme des 9 HAAs (HAA5 + acides bromochloro-, bromodichloro-, dibromochloro-,tribromo-acétiques)
HAN : Haloacétonitrile
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HiWate : Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water (European project)
HR : Hazard Ratio
IARC : International Agency for Research on Cancer
ICC : Coefficient de corrélation intra-classe
ICR : Information Collection Rule (US-EPA)

IMC : Indice de masse corporelle

INVS : Institut National de Veille Sanitaire

IPCS : International Programm on Chemical Safety (OMS)

IRIS : Integrated Risk Information System (US-EPA)

ISCO : International Standard Classification of Occupations

MBAA: Acide bromoacétique

MCAA: Acide chloroacétique

MON : Matière organique naturelle

MX : Chloromethyl-5-hydroxy-2(5H)-furanone

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : Odds-Ratio

PELAGIE : Perturbateurs Endocriniens : étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité et l'Enfance

PFCs : Composés perfluorés

PFOA : Acide perfluorooctanoïque

PFOS : Sulfonate de perfluorooctane

pH : Potentiel hydrogène

RCIU : Restriction de Croissance Intra-Utérine

RMSE : Root mean square error (erreur quadratique moyenne)

RQEP : Règlement sur la qualité de l'eau potable (Québec, Canada)

RR : Risque Relatif

SA : Semaine d'aménorrhée

SGA : Small for Gestational Age

SISE –Eaux : Système d'Information en Santé Environnement sur les Eaux

SPC : Sous-Produit de Chloration

SUVA : COT/absorbance UV (indicateur de réactivité de la matière organique par rapport au chlore)

TCAA : Acide trichloroacétique

TCAN : Trichloroacétonitrile

THM : Trihalométhane

TTHM : Somme des 4 THMs (CLF, BRF, DBCM, BDCM)

UDI : Unité de distribution (réseau d'eau)

US-EPA : United States Environmental Protection Agency

UV : Ultra-violet

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	15
CHAPITRE 1 Contexte – Les sous-produits de chloration de l’eau.....	19
I. Le traitement de l’eau potable	21
I.1 Les filières de traitement	21
I.2 La chimie de la désinfection au chlore	22
I.3 Les désinfectants alternatifs et/ou complémentaires au chlore.....	24
II. Les sous-produits de chloration de l’eau.....	25
II.1 La formation de sous-produits de chloration (SPCs)	25
II.2 La réglementation des SPCs	30
II.2.1 La réglementation canadienne.....	30
II.2.2 La réglementation américaine.....	30
II.2.3 Les valeurs guides de l’OMS.....	30
II.2.4 La réglementation française	31
II.3 Les facteurs influençant la concentration et la composition des SPCs dans l’eau.....	32
II.3.1 Les caractéristiques de l’eau brute	32
II.3.2 Les caractéristiques du processus de traitement utilisé.....	35
II.3.3 Les variations spatiales des SPCs dans les réseaux de distribution.....	36
II.3.4 Les variations saisonnières des SPCs	37
II.3.5 Les modèles prédictifs des concentrations en SPCs	38
II.4 Toxicologie des THMs et HAAs : les études expérimentales et animales	39
II.4.1 Génotoxicité.....	39
II.4.2 Carcinogénicité.....	40
II.4.3 Reprotoxicité	44
III. L’exposition humaine aux SPCs	45
III.1 Les voies d’exposition aux THMs et HAAs.....	45
III.1.1 L’ingestion	45
III.1.2 L’inhalation et l’absorption transcutanée	47
III.1.3 Parts relatives des voies d’exposition	50
III.2 L’évaluation de l’exposition individuelle aux SPCs	51
III.2.1 La fenêtre d’exposition	51
III.2.2 Mesure directe et indirecte de l’exposition aux SPCs.....	51
CHAPITRE 2 Exposition aux sous-produits de chloration de l’eau et cancer de la vessie	57
I. Le cancer de la vessie	59
I.1 Définition.....	59
I.2 Epidémiologie du cancer de la vessie	59

I.3	Facteurs de risque du cancer de la vessie	60
II.	Etudes épidémiologiques sur la relation entre le cancer de la vessie et l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau (revue de la littérature).....	61
III.	Une analyse « poolée » européenne.....	69
III.1	Le projet européen HiWate.....	69
III.2	Justification et objectifs de l'analyse sur le cancer de la vessie	69
III.3	La base de données HiWate	71
III.4	Description des études	72
III.4.1	L'étude Finlandaise (Koivusalo et al. 1998).....	72
III.4.2	L'étude Française (Cordier et al. 1993; Chevrier et al. 2004).....	72
III.4.3	L'étude Espagnole (Villanueva et al. 2007a).....	74
III.5	Les caractéristiques des échantillons poolés.....	75
III.5.1	Caractéristiques générales	75
III.5.2	Les facteurs de risques associés au cancer de la vessie	76
III.5.3	La consommation individuelle de boissons à base d'eau	78
III.6	Mesures de l'exposition aux THMs.....	79
III.6.1	Définition d'une fenêtre d'exposition commune.....	79
III.6.2	Les indicateurs d'exposition environnementale	80
III.6.3	Les indicateurs d'exposition intégrant les usages de l'eau	81
IV.	Méthodes.....	82
IV.1	Les méthodes statistiques d'analyse de données issues de plusieurs études	82
IV.1.1	La méta-analyse.....	82
IV.1.2	La méta-régression	86
IV.1.3	L'analyse « poolée »	87
IV.1.4	Les avantages et inconvénients de ces 2 stratégies d'analyse.....	87
IV.1.5	Une approche alternative en deux étapes pour analyser des données « poolées ».....	88
IV.2	La modélisation statistique du risque associé à l'exposition	90
V.	Résultats	91
V.1	Résultats issus de l'analyse poolée.....	91
V.1.1	Distribution des indicateurs d'exposition.....	91
V.1.2	Etude de la relation entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie.....	100
V.2	Résultats issus de la méta-analyse.....	112
V.2.1	Estimation de la relation exposition – risque de cancer de la vessie dans chaque étude.....	113
V.2.2	Méta-analyse	117
V.2.3	Quelle spécificité Européenne ? Résultats de la méta-régression	118
VI.	Discussion	123
 CHAPITRE 3 Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse.....		
I. Les effets de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau en santé reproductive (revue de littérature)		135
I.1	Les études reposant sur une mesure qualitative de l'exposition	138

I.2	Les études reposant sur des mesures de SPCs dans les réseaux	139
I.2.1	L'utilisation de données réglementaires.....	139
I.2.2	L'utilisation de données collectées ad-hoc.....	140
I.2.3	Résultats des études basées sur des mesures environnementales de SPCs	141
I.3	Les études intégrant des usages individuels de l'eau	142
I.4	Les études intégrant l'exposition aux autres SPCs que les THMs.....	144
I.5	Une étude intégrant une interaction gène-environnement	145
I.6	Une méta-analyse.....	146
II.	La cohorte PELAGIE.....	162
III.	Deux issues de grossesse d'intérêt : la prématurité et le retard de croissance intra-utérin	167
III.1	La durée de gestation.....	167
III.1.1	L'estimation de l'âge gestationnel.....	167
III.1.2	La prématurité.....	169
III.1.3	Les facteurs associés au risque de prématurité dans la cohorte PELAGIE.....	169
III.2	Le retard de croissance intra-utérin.....	170
III.2.1	Le petit poids pour l'âge gestationnel (« small for gestational age » – SGA)	170
III.2.2	La restriction de croissance intra-utérine (RCIU).....	171
III.2.3	Les facteurs associés au risque de RCIU dans la cohorte PELAGIE.....	172
IV.	Estimation de l'exposition prénatale aux SPCs dans la cohorte PELAGIE.....	173
IV.1	Estimation indirecte de l'exposition aux THMs via l'eau du robinet.....	173
IV.1.1	Estimation des niveaux de THMs dans les réseaux d'eau.....	173
IV.1.2	Les usages de l'eau par les femmes enceintes	186
IV.1.3	L'estimation des doses internes de THMs	189
IV.2	Une mesure directe de l'exposition aux SPCs par biomarqueur (l'acide trichloroacétique dans les urines maternelles).....	191
IV.2.1	Les études cas-témoins nichées dans la cohorte PELAGIE	191
IV.2.2	Le dosage du TCAA urinaire (aspects techniques).....	192
V.	Méthodes statistiques.....	193
VI.	Association entre exposition aux THMs et risque de prématurité et de restriction de croissance intra-utérine	194
VI.1	Association avec l'exposition environnementale.....	194
VI.2	Association avec l'exposition pondérée par les usages de l'eau par les femmes enceintes	196
VI.3	Association avec le TCAA urinaire maternel	199
VI.3.1	Les niveaux de TCAA urinaire observés.....	199
VI.3.2	Corrélations entre les niveaux de TCAA urinaire et les autres mesures d'exposition aux SPCs.....	199
VI.3.3	Association entre le TCAA urinaire et les risques de prématurité et de restriction de croissance intra-utérine	202
VII.	Discussion	204
CHAPITRE 4	Discussion/Conclusion.....	219
BIBLIOGRAPHIE	227

Annexes	241
ANNEXE A – Résultats des études cas-témoins initiales incluses dans la méta-analyse sur le cancer de la vessie	243
ANNEXE B – Facteurs associés au risque de prématurité et de retard de croissance intra-utérin dans la cohorte PELAGIE.....	246
ANNEXE C – Association entre l'exposition aux THMs et le risque de prématurité et de RCIU dans la cohorte PELAGIE– Exposition au cours des 1^{er} et 2^{ème} trimestres de grossesse	248
ANNEXE D – Caractéristiques socio-démographiques des mères participant au suivi à 2 ans de la cohorte PELAGIE	254
ANNEXE E – Publication liée à la thèse : Water disinfection by-products and bladder cancer: is there a European specificity? A pooled and meta-analysis of European case-control studies...	255
ANNEXE F – Publication liée à la thèse : Environmental and Urinary Markers of Prenatal Exposure to Drinking Water Disinfection By-Products, Fetal Growth, and Duration of Gestation in the PELAGIE Birth Cohort (Brittany, France, 2002–2006)	263

INTRODUCTION

La désinfection de l'eau potable : une avancée majeure pour la santé publique

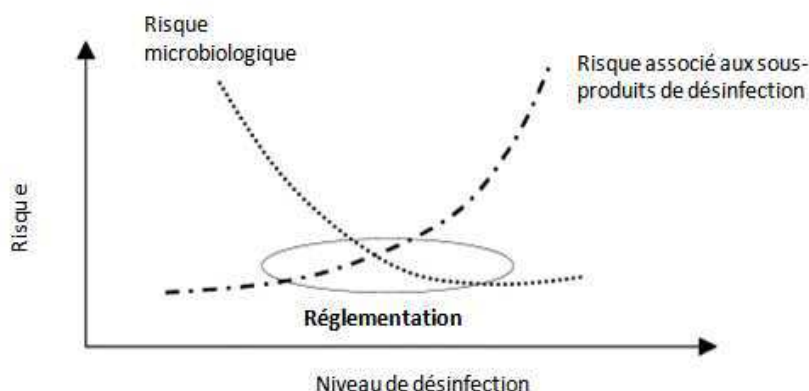
Le 28 juillet 2010, l'assemblée générale de l'ONU a voté une résolution reconnaissant l'accès à une eau de qualité et à des installations sanitaires comme un droit humain : « *Le droit à une eau potable propre et de qualité et à des installations sanitaires est un droit de l'homme, indispensable à la pleine jouissance du droit à la vie* ». La résolution pointe le fait que 884 millions de personnes dans le monde (13%) n'ont pas accès à l'eau potable et que plus de 2,6 milliards ne disposent pas d'installations sanitaires de base. Environ deux millions de personnes, pour la plupart des jeunes enfants, meurent chaque année des suites de maladies causées par une eau impropre à la consommation et l'absence de sanitaires. L'accès à l'eau potable pour la population est un des enjeux majeurs du 21^{ème} siècle. D'importantes disparités existent entre les différentes régions du monde. Tandis qu'on estime que l'ensemble de la population des pays développés a accès à l'eau potable, 84 % seulement en bénéficient dans les pays en développement (90 % en d'Asie et seulement 60 % en Afrique subsaharienne). La problématique de l'accès à l'eau potable comporte deux aspects étroitement liés : en amont, l'existence d'un assainissement permettant de limiter la pollution des ressources naturelles et en aval le traitement de l'eau afin de la rendre potable.

La chloration de l'eau est un moyen très efficace de désinfection de l'eau qui a permis de réaliser des progrès considérables en termes de santé publique dans les pays industrialisés qui ont systématisé son utilisation au cours du 20^{ème} siècle. Le chlore a été découvert en 1774 par Karl W. Scheele, reconnu comme élément en 1810 par Davy. L'eau de Javel (solution d'hypochlorite de sodium) a été commercialisée dès 1798 et utilisée pour la première fois comme désinfectant par Semmelweis en 1846 à la maternité de l'hôpital de Vienne (Autriche) pour laver les mains des sages-femmes et réduire ainsi le risque de fièvre puerpérale. En 1881, Koch a montré les propriétés bactéricides des hypochlorites. Au 19^{ème} siècle, les épisodes épidémiques liés à une eau impropre à la consommation (fièvre typhoïde, choléra) étaient encore courants dans les pays occidentaux, aux Etats-Unis comme en Europe. La célèbre épidémie de choléra liée à la

contamination d'une pompe à eau qui a sévi à Londres en 1854, résolue par le docteur John Snow en est un exemple. La diffusion de la chloration de l'eau s'est réellement faite à partir de 1900, principalement dans les villes des pays en voie d'industrialisation (US EPA 1999; US EPA 2000; Wigle 2000). Cette révolution de la purification de l'eau est considérée comme LA réussite majeure du 20^{ème} siècle en termes de santé publique, en permettant de réduire considérablement les maladies dues à l'eau dans le monde occidental (Calderon 2000). On estime que son introduction aux Etats-Unis a par exemple permis de réduire l'incidence du choléra de 90%, de la typhoïde de 80% et de la dysenterie amibienne de 50% (Cutler and Miller 2005).

Cependant, les années 1970 marquent un tournant important dans l'histoire de la désinfection de l'eau, en révélant le revers de cette technique efficace : la formation, lors du processus de chloration de l'eau, de produits chimiques potentiellement dangereux pour la santé. Dès lors, les décideurs de santé publique ont été amenés à s'intéresser à cet aspect plus sombre de la chloration de l'eau (« the dark side of chlorine ») afin d'évaluer le risque qu'elle représente pour les très nombreux consommateurs qui y sont exposés quotidiennement. Des études toxicologiques et épidémiologiques ont été menées, permettant de fournir des éléments d'arbitrage entre les risques biologique et chimique désormais impliqués dans la question du traitement de l'eau potable (Figure 1).

Figure 1. Arbitrage entre risque chimique et biologique dans le choix des stratégies de désinfection de l'eau potable.



Source : traduit de (Sadiq and Rodriguez 2004)

L'objectif de la thèse

L'objectif de cette thèse est l'investigation des effets sanitaires de l'exposition à long terme et à court terme aux sous-produits de chloration (SPCs). Pour ce faire, nous avons mené deux études épidémiologiques : l'une consiste en une analyse poolée et une méta-analyse d'études cas-témoins mettant en relation l'exposition au cours de la vie aux SPCs et le risque de cancer de la vessie en Europe. Elle a pour objectif d'établir une synthèse de la relation exposition-risque observée en intégrant les dernières études disponibles. La seconde étude s'intéresse à l'effet de l'exposition in utero aux SPCs sur le déroulement et l'issue de la grossesse. L'exposition y est estimée à l'aide de mesures environnementales, mais aussi d'un biomarqueur urinaire.

Avant de présenter les travaux réalisés dans le cadre de ces deux études, nous allons consacrer un **premier chapitre** à une présentation détaillée du contexte dans lequel elles s'inscrivent. Dans ce chapitre, nous verrons de quelle façon la désinfection de l'eau potable peut engendrer la formation de sous-produits, quelle est leur nature, les résultats des études de toxicité in vitro et chez l'animal déjà disponibles. Ce chapitre se conclura sur la question de l'exposition humaine à ces sous-produits : de l'identification des voies d'exposition aux enjeux méthodologiques soulevés par la mesure de cette exposition.

Le **deuxième chapitre** sera consacré à l'étude concernant le risque de cancer de la vessie.

Le **troisième chapitre** présentera l'étude consacrée au risque de restriction de croissance et de prématurité.

Enfin, un **quatrième chapitre** fera la synthèse des résultats obtenus et des questions soulevées par ces deux études.

CHAPITRE 1

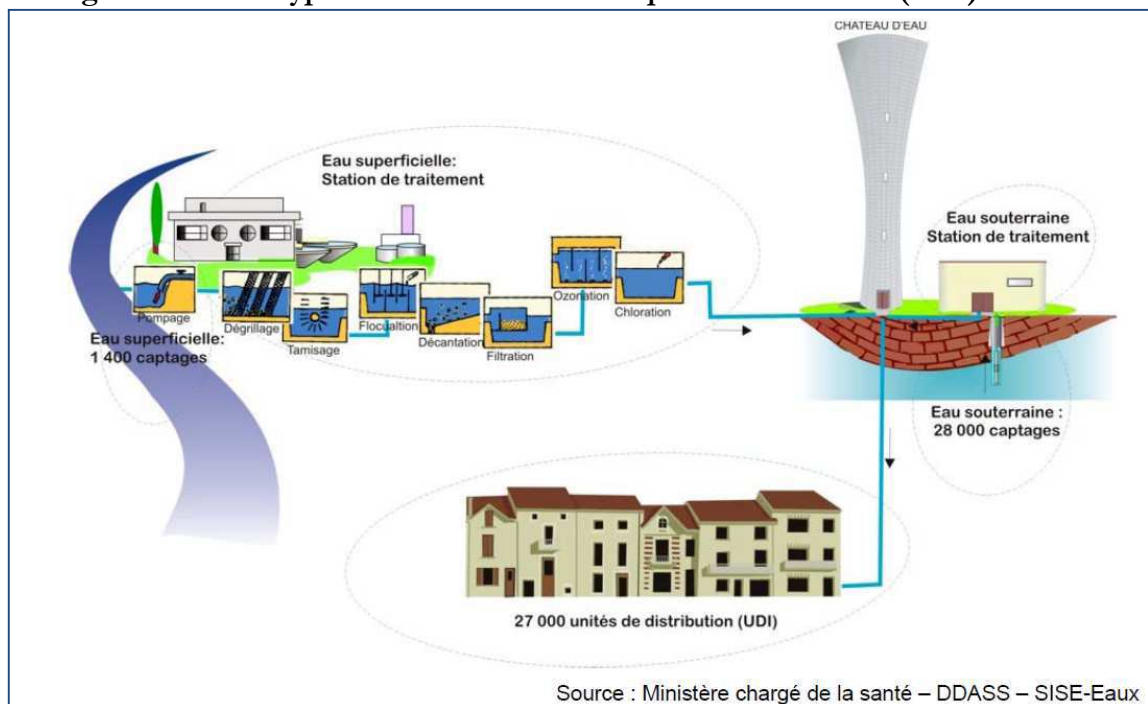
CONTEXTE – LES SOUS-PRODUITS DE CHLORATION DE L'EAU

I. Le traitement de l'eau potable

I.1 Les filières de traitement

Les filières de traitement de l'eau potable se sont perfectionnées tout au long du 20^{ème} siècle, dans les pays industrialisés. Avant d'être mise en distribution dans les réseaux d'alimentation en eau potable, l'eau brute captée en surface (dans les rivières, lacs, barrages) ou en profondeur (dans les nappes phréatiques) subit un processus de traitement dont la chloration, ou plus généralement la désinfection, peut intervenir à différentes phases. Le schéma ci-dessous (DGS 1995) présente le processus-type de traitement utilisé en France aujourd'hui.

Figure 2. Filière-type de traitement de l'eau potable en France (1995)



L'eau captée est prétraitée afin de la préparer à une désinfection efficace et fiable. L'eau pompée passe d'abord par des méthodes mécaniques et chimiques visant à éliminer le maximum de matières indésirables (dégrillage, tamisage, floculation, décantation, filtration sur bancs de sable

ou charbon actif). Ces étapes sont particulièrement nécessaires pour les eaux superficielles, plus chargées en polluants. Les eaux issues de captages en sources profondes, moins polluées, subissent généralement un prétraitement allégé.

La chloration peut intervenir à différents moments du traitement :

- Parfois, il est procédé à une **pré-chloration**. Elle a concerné des réseaux alimentés par des eaux de qualité particulièrement médiocre. Elle consiste à ajouter du chlore à l'entrée des eaux brutes dans l'usine de potabilisation, avant tout autre traitement. Elle a pour but d'enlever les odeurs, le goût et permet de contrôler la croissance biologique au cours du traitement. Cette pratique tend à disparaître, compte tenu des fortes doses de chlore nécessaires dans cette phase et la production importante de sous-produits indésirables, comme nous le verrons par la suite.
- La **chloration** principale intervient le plus souvent en phase finale de traitement pour neutraliser les organismes pathogènes et assurer une eau exempte d'agents pathogènes en sortie d'usine. Elle peut être accompagnée de traitements chimiques alternatifs tels que l'ozonation. Cette phase s'appelle la désinfection **primaire**.
- Enfin, des points de **rechloration**, après la sortie de l'usine, peuvent être positionnés tout au long du réseau de distribution, afin d'empêcher la réactivation des agents pathogènes au sein du réseau et garantir la qualité bactériologique de l'eau jusqu'aux domiciles les plus éloignés de la station de traitement. On parle alors de **désinfection secondaire**.

I.2 La chimie de la désinfection au chlore

Le chlore tue les organismes pathogènes tels que les bactéries et les virus en cassant les liaisons chimiques de leurs molécules : les désinfectants utilisés à cette fin sont des composés du chlore qui peuvent échanger des atomes avec d'autres composés, tels que des enzymes dans les bactéries et autres cellules. Lorsque l'enzyme vient en contact avec le chlore, un ou plusieurs atomes d'hydrogène de la molécule sont remplacés par le chlore, ce qui dans la plupart des cas provoque sa dissociation ou sa désactivation. Les bactéries et virus sont ainsi détruits ou inactivés.

Le chlore (Cl_2) est fortement hydrosoluble. Dans les grandes installations municipales et industrielles de purification d'eau, il est introduit sous forme gazeuse. Lorsque le chlore est ajouté

à l'eau, l'acide hypochlorique (HOCl) est formé. Celui-ci se dissocie partiellement en ion hypochlorite (OCl). L'acide hypochlorique, les ions d'hypochlorite et le chlore forment ce qu'on appelle le **chlore libre**. L'acide hypochlorique et les ions d'hypochlorite sont de bons désinfectants, l'acide hypochlorite étant le plus réactif. Il peut de plus se dissocier en acide chlorhydrique (HCl) et en atome d'oxygène qui est aussi un désinfectant puissant. Les propriétés désinfectantes du chlore dans l'eau sont donc basées sur les réactions de substitution de chlore et la puissance d'oxydation des atomes d'oxygène libres.

Chlore libre versus chlore combiné

Lorsque le chlore est ajouté à l'eau, il réagit premièrement avec les composés organiques et inorganiques dissous dans l'eau (autres que bactéries et virus), et forme d'autres produits chlorés. La quantité totale de chlore qui est employée pendant ce processus s'appelle **la demande en chlore de l'eau**. Ce chlore, dit **chlore combiné ou lié**, étant en association chimique avec d'autres produits, il est nettement moins efficace pour la désinfection par rapport au chlore libre. Pour une désinfection efficace, il faut donc tenir compte de cette demande en chlore et fournir des doses de chlore initiales supérieures à celles strictement nécessaires pour la neutralisation des agents pathogènes.

Les facteurs influençant l'efficacité de la désinfection au chlore

Il est possible de prédire l'efficacité d'une désinfection au chlore d'après la concentration résiduelle de chlore libre, la température, le pH et le temps de contact. Cette relation est communément appelée le critère CT qui correspond à la concentration résiduelle (C) de désinfectant, en mg/L, mesurée à la sortie du bassin de chloration, multipliée par le temps de contact (T) avec le désinfectant, en minutes. Le temps de contact nécessaire varie d'un micro-organisme à l'autre (par exemple, moins d'une minute pour *E. coli*, 16 minutes pour le virus de l'hépatite A, 6 à 7 jours pour *Cryptosporidium* (eau chlorée à 1 mg/L, pH 7,5, T° de 25°C)). Les valeurs CT requises pour parvenir à l'inactivation nécessaire varient aussi selon le pH et la température (Santé Canada 2009).

Le maintien d'un niveau de chlore libre résiduel suffisant dans le système de distribution est le meilleur moyen pour réduire les risques de recroissance bactérienne. Or, le chlore se dégrade à mesure que l'eau est transportée dans le système de distribution, particulièrement dans les gros systèmes de distribution où les concentrations en chlore libre résiduel peuvent devenir très faibles voire indétectables aux extrémités (Rodriguez and Serodes 2001). Afin d'assurer un niveau minimal de désinfection dans le réseau, l'OMS préconise une teneur en chlore libre

résiduel en tous points du réseau de distribution de 0,2 à 0,5 mg/L. Aux États-Unis, l'EPA demande une concentration de chlore résiduel libre de 0,2 mg/L à la sortie de l'usine de traitement des eaux. En France, dans le cadre de l'application du plan Vigipirate, des consignes d'augmentation de la chloration de l'eau potable ont été diffusées (circulaire DGS/SD7A n°2003-524/DE/19-03 du 7 novembre 2003). Elles exigent notamment de « maintenir une concentration minimale en chlore libre de 0,3 mg/L en sortie des réservoirs et viser une concentration de 0,1 mg/L en tout point du réseau de distribution ». Au Québec, le nouveau règlement sur la qualité de l'eau potable (RQEP) (Gouvernement du Québec, 2001), en vigueur depuis juin 2001, fixe une concentration de chlore libre résiduel libre minimum à 0,3 mg/L à la sortie de l'usine de traitement de l'eau potable.

En termes économiques, le chlore (liquide ou gazeux) (Cl_2) est le désinfectant qui a les coûts de production et de fonctionnement les plus bas. Il présente donc un rapport coût-efficacité très élevé.

I.3 Les désinfectants alternatifs et/ou complémentaires au chlore

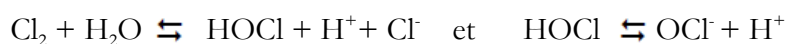
Les autres désinfectants chimiques utilisés pour l'eau potable sont l'ozone (O_3), les chloramines (principalement la monochloramine – NH_2Cl), le dioxyde de chlore (ClO_2). Ces désinfectants alternatifs peuvent être utilisés seuls ou en association avec la chloration (Sadiq and Rodriguez 2004). L'ozone est un oxydant puissant et rapide, il est le désinfectant primaire le plus efficace. Mais il est cependant instable et ne peut être utilisé comme désinfectant secondaire pour maintenir un niveau de désinfection satisfaisant tout au long des réseaux de distribution. Il est donc utilisé en amont d'une chloration finale. La monochloramine est obtenue par réaction entre l'ammoniaque et l'acide hypochlorite. C'est un désinfectant moins efficace que le chlore et l'ozone qui n'est donc pas recommandé pour la désinfection primaire. Il est en effet pratiquement impossible de maintenir un temps de contact suffisant pour éliminer les virus et certaines bactéries. Par contre, son temps de réaction plus long et sa forte persistance dans les réseaux de distribution en font un désinfectant secondaire intéressant, largement utilisé aux États-Unis, notamment (Ngwenya et al. 2013).

Si l'ozone peut servir de désinfectant primaire uniquement, et les chloramines de désinfectant secondaire, le chlore et le dioxyde de chlore peuvent servir à la fois de désinfectants primaire et secondaire (IPCS 2000).

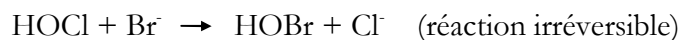
II. Les sous-produits de chloration de l'eau

II.1 La formation de sous-produits de chloration (SPCs)

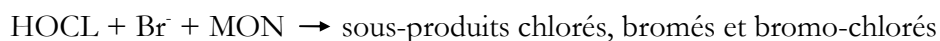
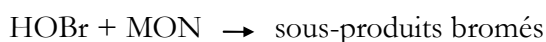
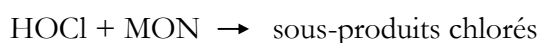
Les premières publications relatant la présence de produits halogénés issus de la chloration de l'eau potable datent des années 1970 (Bellar et al. 1974; Rook 1974). Ces sous-produits de chloration (SPCs) ne sont pas présents dans l'eau brute, ils se forment lors de l'interaction entre le chlore et la matière organique naturelle dissoute (MON) et/ou les ions bromure présents dans l'eau brute. La matière organique naturelle dissoute (souvent quantifiée par le carbone organique total), qui contient des acides fulviques et humiques, constitue le précurseur organique de la formation des SPCs. L'ion bromure constitue lui un précurseur non-organique selon l'enchaînement de réactions suivant (IPCS 2000) : lorsque le chlore (Cl_2) est ajouté à l'eau sous forme gazeuse ou liquide, il est hydrolysé pour former de l'acide et des ions hypochlorites (respectivement HOCl et OCl^-) :



L'acide hypochlorique oxyde les ions bromures présents dans l'eau pour former de l'acide hypobromite (HOBr).



Les acides hypochlorite et hypobromite, qui sont respectivement hautement oxydant et halogénant, réagissent ensemble avec la matière organique naturelle par oxydation et substitution pour former des sous-produits de familles chimiques différentes :



Les premiers sous-produits mis en évidence ont été les trihalométhanes (THMs) au début des années 1970 (Rook 1974) puis les acides halo-acétiques (HAAs) à la fin des années 1980 (Krasner et al. 1989).

Les trihalométhanes (THMs) sont des composés organiques basés sur le méthane (CH_4), dans lesquels trois atomes d'hydrogène sont remplacés par trois atomes d'halogènes (majoritairement le chlore ou le brome).

Les quatre variétés de THMs les plus communes sont :

- Le chloroforme (ou trichlorométhane), de formule CHCl_3 , noté CLF
- Le bromoforme (ou tribromométhane), de formule CHBr_3 , noté BRF
- Le bromodichlorométhane, de formule CHCl_2Br , noté BDCM
- Le dibromochlorométhane, de formule CHClBr_2 , noté DBCM

On considère souvent la somme de ces quatre composés, notée TTHM.

Les acides halo-acétiques (HAAs) sont des composés analogues de l'acide acétique ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$) dans lequel des atomes d'hydrogène du groupe méthyle sont remplacés par des atomes d'halogène (chlore ou brome).

Les cinq variétés d'acides halo-acétiques les plus communes sont :

- L'acide chloroacétique ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H}$), noté CAA
- L'acide bromoacétique ($\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{H}$), noté BAA
- L'acide dichloroacétique ($\text{CHCl}_2\text{CO}_2\text{H}$), noté DCAA
- L'acide dibromoacétique ($\text{CHBr}_2\text{CO}_2\text{H}$), noté DBAA
- L'acide trichloroacétique ($\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$), noté TCAA

La somme de ces cinq acides est parfois considérée (notée HAA5). Parfois, les acides halo-acétiques mélangeant des éléments bromés et chlorés (acides bromochloroacétique, bromodichloroacétique, dibromochloroacétique, tribromoacétique) y sont aussi inclus pour former la somme des 9 acides halo-acétiques (HAA9).

Les THMs et les HAAs sont les sous-produits les plus présents en quantité dans les eaux, ils représentent ensemble environ 20 à 30% des 600 sous-produits environ identifiés aujourd'hui d'après les différentes études effectuées dans différentes parties du monde (Etats-Unis, Europe, Asie, Australie) et synthétisées récemment dans 3 revues (Richardson et al. 2007); (Krasner et al. 2006); (Jeong et al. 2012). Ces deux classes de produits étaient déjà les plus présentes dans les premières études d'occurrence de SPCs (Krasner et al. 1989). Ils sont présents à des taux de l'ordre de 10 à 10^2 $\mu\text{g/L}$. Parmi les THMs, le chloroforme est le plus représenté (taux de l'ordre de 10 à 10^2 $\mu\text{g/L}$), les trois autres THMs ayant plutôt des taux de l'ordre de 1 - 10 $\mu\text{g/L}$. Parmi les

HAA, les acides dichloroacétique et trichloroacétique, dibromoacétique sont les plus présents (taux de l'ordre de 10 à 10² µg/L).

Les principales autres classes de sous-produits mises en évidence sont les haloacétonitriles (HANs), les oxyhalides (dont les bromates, chlorites), les halonitrométhane, iodo-acides, iodo-THMs, le MX, les haloamides, les nitrosamines, des aldéhydes. Ces produits sont présents à des taux variables, indiqués dans le Tableau 1. Des chlorites peuvent être observés à des taux comparables à ceux du chloroforme (10 à 10² µg/L). La liste des produits identifiés tend à s'allonger au cours des années, du fait notamment de l'utilisation de désinfectants alternatifs au chlore ou de combinaisons de désinfectants qui créent à leur tour des sous-produits de désinfection spécifiques dits « émergents » (Richardson et al. 2007; Krasner 2009).

Tableau 1. SPCs répertoriés par l'US-EPA (Richardson et al. 2007); (Mouly et al. 2008)

Sous-produits	Concentrations (µg/L)	Type de traitement
Trihalométhane (THMs)		
Chloroforme	10-10 ²	Chlore +++
Bromodichlorométhane	1-10	Chloramines +
Chlorodibromométhane	1-10	Dioxyde chlore +/-
Bromoforme	1-10	Ozone +/-
Acides halo-acétiques (HAAs)		
Acide chloroacétique	1	Chlore +++
Acide bromoacétique	1	Chloramines +/-
Acide dichloroacétique	10-10 ²	Dioxyde chlore +/-
Acide dibromoacétique	10-10 ²	Ozone +/-
Acide trichloroacétique	10-10 ²	
Oxyhalides		
Bromates	1	Chlore, Dioxyde de chlore, Ozone +++
Chlorites	10-10 ²	Dioxyde chlore +++
Autres composés non réglementés aux Etats-Unis		
Haloacétonitriles (HANs)	1	Chloramines (dichloroacétonitrile)
Halonitrométhane	10 ⁻³ -10	Ozone+Chlore, Ozone+chloramines chloropicrine)
Iodo-acides	10 ⁻³ -1	Chloramines +++
MX	10 ⁻³ -1	Chlore+chloramines
Haloamides	1	
Halopyrroles	10 ⁻³ -1	
Nitrosamines	10 ⁻³ -1	Chloramines +++
Aldéhydes	0-10	Ozone ++

Les niveaux de concentration des sous-produits observés dans les réseaux varient selon les pays et ont tendance à diminuer, du fait de la mise en place de réglementations spécifiques (cf. partie II.2) et de l'évolution des pratiques de traitement de l'eau potable visant à limiter la production de sous-produits de chloration. De grandes campagnes de mesure de sous-

produits dans les réseaux ont été menées aux Etats-Unis dès la fin des années 1970 (Krasner et al. 1989). En 2002, une étude menée aux Etats-Unis par l'US EPA (Information Collection Rule) estime le niveau moyen de THMs dans l'eau distribuée à 38 µg/L (90^{ème} percentile = 78 µg/L), montrant une baisse de 50 à 60% par rapport à la première étude réalisée dans les années 1970 (McGuire et al. 2002).

Dans le cas du projet européen HiWate (2007-2011) (Nieuwenhuijsen et al. 2009b), des échantillons d'eau ont été prélevés en 2010 dans différents pays européens (France, Lituanie, Espagne, Italie, Royaume-Uni) dont les pratiques de traitement de l'eau étaient variables (traitement au chlore, ozonation, désalinisation, dioxyde de chlore ...). Les niveaux moyens de TTHM (total des 4 THMs) varient de la non-détection à des niveaux élevés en Espagne (Barcelone) de l'ordre de 65 µg/L à 139 µg/L (Jeong et al. 2012). La France (région Bretagne) présentait un niveau moyen de 14,7 µg/L, l'Angleterre (région de Bradford) un niveau de 20-30 µg/L. Mais une étude réalisée par l'INVS en 2006-2007 (Mouly et al. 2008; Mouly et al. 2010) a montré des taux moyens variant de 29,5 à 111,5 µg/L sur 3 autres sites français (Le Mans, Nancy, Sablé sur Sarthe). Le Tableau 2, complété après (Mouly et al. 2008), présente les niveaux des principaux sous-produits relevés dans les études menées depuis deux décennies. Ce tableau donne un ordre de grandeur des concentrations relevées dans les réseaux de différents pays. De fortes disparités inter et intra pays existent qui s'expliquent par les facteurs qui influencent le niveau et le type de produits générés que nous allons présenter dans la partie suivante. Ces facteurs concernent à la fois la ressource et le traitement mis en œuvre.

Tableau 2. Concentrations (µg/L) en SPCs rapportés dans la littérature, complété après (Mouly et al. 2008)

Etude	Pays	TTHM	HAAs	HANs	Halocétone
Peters et al. (1990)	Allemagne	3,1-49,5	<0,5-14,7	0,04-1,05	-
Peters (1991)	Allemagne				
Krasner et al. (1989)	Etats-Unis	30,0-44,0	13,0-21,0	2,5-4,0	0,9-1,8
Koch et al. (1991)	Etats-Unis	49,0-81,0	22,0-32,0	2,0-2,6	1,0-2,0
Nieminski et al. (1993)	Etats-Unis	17,0-51,0	5,0-25,0	0,5-5,0	0,2-1,6
Fayad (1993)	Arabie Saoudite	<0,1-41,7	-	-	-
Lou et Chiang (1994)	Taïwan	17,2-30,1	-	-	-
Williams et al. (1995)	Canada	1,5-342,4	0,3-533,7	<0,1-16,3	<0,1-13,4
Chen et Weisel (1998)	Etats-Unis	14,0-42,0	14,0-26,0	1,3-4,0	0,6-2,8
Rapinat et al. (2001)	France	<4,0-137,0	-	-	-
Nissinen et al. (2002)	Finlande	<1,0-102,8	<2,5-260,0	-	-
Rodriguez et al. (2004)	Canada (Québec)	5,1-101,1	6,3-106,8	-	-
Malliarou et al. (2005)	Angleterre	14,9-76,0	31,3-244,0	-	-
Krasner et al. (2006)	Etats-Unis	4,0-164,0	5,0-130,0	<LD-14,0	<LD-9,0
Geriesh et al. (2008)	Egypte	35,0-101,0	-	-	-
Onstad et al. (2008)	Etats-Unis	16,0-74,0	<1,0-74,0	-	-
Lantagne et al. (2008)	Kenya	0,7-202,2	-	-	-
Mouly et al. (2008)	France	21,6-86,5	4,3-14,9	2,3-4,0	-
Chang et al. (2010)	Corée du Sud	1,0-46,7	<LD-133,2	-	-
Jeong et al. (2012)	Europe	<LD-139	<LD-51,5	<LD-8,88	<LD-6,86
Villanueva et al. (2012)	Espagne	0,8-98,1	0,9-86,9	2,0-8,3	1,0-2,7
Lee et al. (2013)	Taïwan	3,9-53,5	<LD-49,5	-	-

Abbreviations : TTHM = total des 4 trihalométhanes, HAAs = total des 5 acides haloacétiques, HANs = total des acides haloacétonitriles

Les THMs comme représentants des SPCs

Pour la suite de ce travail, nous nous concentrerons sur les deux classes de SPCs les plus présentes dans l'eau et les plus mesurées dans les études épidémiologiques : les THMs et les HAAs. Les THMs, plus précisément la somme des 4 THMs (notée TTHM) évoqués ci-dessus, ont beaucoup été utilisés comme proxy de la quantité globale de SPCs présents dans l'eau. Le choix de cette mesure d'exposition fera l'objet d'une discussion dans la dernière partie de cette thèse. Progressivement, les études épidémiologiques tentent de différencier l'exposition à d'autres classes de SPCs, à commencer par les HAAs, ce que nous ferons dans la 2^{ème} partie de la thèse. Les autres produits ne sont pas mesurés en routine dans les réseaux d'eau et les méthodes analytiques ne sont pas encore bien établies pour tous les SPCs découverts plus récemment.

II.2 La réglementation des SPCs

Dès la fin des années 70, un certain nombre de pays ont adopté une réglementation concernant la concentration en SPCs dans l'eau distribuée à la population. Conformément à ce que nous venons de voir, les THMs ont été considérés comme marqueurs de la présence globale de SPCs et donc les premiers réglementés.

II.2.1 La réglementation canadienne

Le Canada a été le premier pays, en 1978, à réglementer les THMs dans l'eau potable distribuée, Santé Canada fixant le seuil de 350 µg/L pour la somme des THMs. Une révision en 1996 a abaissé ce seuil à 100 µg/L (Santé Canada 1996). Depuis 2006, un seuil de 16 µg/L a de plus été fixé pour le BDCM (Santé Canada 2006). En 2008, des recommandations concernant les HAAs ont été formulées, la somme des cinq principaux HAAs ne doit pas excéder 80 µg/L (Santé Canada 2008). Les différentes provinces ont suivi les recommandations de Santé Canada, le Québec se distinguant cependant par un seuil pour la somme des THMs de 80 µg/L depuis 2006.

II.2.2 La réglementation américaine

Dès 1979, l'agence de protection de l'environnement (US-EPA) a fixé à 100 µg/L la limite de concentration de la somme des 4 THMs présente dans l'eau distribuée aux populations de plus de 100 000 habitants (Safe Drinking Water Act). La réglementation des SPCs aux Etats-Unis a ensuite évolué deux fois jusqu'à aujourd'hui. En 1998, le seuil réglementaire pour les THMs est passé à 80 µg/L, et le seuil de 60 µg/L a été fixé pour la somme des 5 HAAs. Cette réglementation a de plus été étendue à tous les réseaux d'eau distribuée des Etats-Unis. Ces seuils s'appliquent à la moyenne annuelle observée sur chaque réseau d'eau sur la base de prélèvements trimestriels. En 2006, suite à l'observation d'une grande variabilité de mesures au sein d'un même réseau, le calcul de la valeur moyenne annuelle a été « localisé » par zones homogènes de niveau de SPCs au sein de chaque réseau. La fréquence de prélèvement dépend aussi de la taille de la population desservie par le réseau. Deux autres SPCs sont aujourd'hui régulés aux Etats-Unis : les bromates (seuil à 10 µg/L) et les chlorites (seuil à 1 µg/L). Des concentrations maximales non exigibles ont aussi été proposées : 30 µg/L pour le MCA, 0 pour le DCAA (en raison de sa cancérogénicité) et 20 µg/L pour le TCAA.

II.2.3 Les valeurs guides de l'OMS

En 1984, l'OMS a édité des recommandations pour la qualité de l'eau potable incluant la problématique du risque chimique posé par la présence de SPCs dans les eaux traitées. Une

valeur-guide de 30 µg/L était indiquée pour la concentration de l'eau en chloroforme. En 1993, une valeur guide spécifique à chaque THM a été proposée (OMS 1993) (Tableau 3).

Tableau 3. Valeurs-guides de l'OMS (OMS 1993) concernant les teneurs en THMs et HAAs de l'eau distribuée

SPC	Valeur-guide
THMs	
Chloroforme	200 µg/L
BDCM	60 µg/L
DBCM	100 µg/L
Bromoforme	100 µg/L
HAAs	
DCAA	50 µg/L
TCAA	100 µg/L

Abbréviations : THMs : trihalométhanes, BDCM : bromodichlorométhane, DBCM : dibromochlorométhane, HAAs : acides haloacétiques, DCAA : acide dichloroacétique, TCAA : acide trichloroacétique

Ces valeurs-guides s'accompagnent d'une condition tenant compte de l'effet additif possible des SPCs au sein du mélange présent :

$$\frac{CLF}{200} + \frac{BDCM}{60} + \frac{DBCM}{100} + \frac{BRF}{100} \leq 1$$

De même, trois HAAs font l'objet de recommandations par l'OMS : un seuil de 100 µg/L pour le TCAA et de 50 µg/L pour le DCAA (OMS 2005) (ce seuil est cependant provisoire, du fait de l'incertitude de pouvoir assurer une désinfection efficace de l'eau avec un niveau de DCAA <40 µg/L). Le seuil recommandé pour le MCAA est lui de 20 µg/L (OMS 2004).

II.2.4 La réglementation française

Ce n'est qu'en 2003 que la France a introduit une réglementation des THMs, suite à la directive européenne de 1998 (Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine). En 2001, un décret (décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001) avait défini un seuil provisoire de 150 µg/L jusqu'en décembre 2008, abaissé depuis à 100 µg/L. Ce décret abrogé a été codifié, depuis mai 2003, dans le code de la santé publique aux articles R. 1321-1 à R. 1321-66. Des arrêtés d'application complètent le dispositif réglementaire. Depuis le 25 décembre 2003, l'ensemble de ces dispositions réglementaires s'applique. Les points de surveillance dans les réseaux sont laissés à l'appréciation des Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales. Le programme de surveillance

actuel prévoit un prélèvement au point de mise en distribution si l'eau subit un traitement au chlore et au robinet du consommateur si la teneur en chlore résiduel mesurée dans le réseau est supérieure à 0,5 mg/L ou s'il y a un poste de rechloration sur le réseau. La fréquence des prélèvements est fonction de la taille de la population desservie, elle varie de une fois tous les 10 ans (moins de 50 personnes desservies par le réseau) à une fois par mois (plus de 300 000 personnes desservies) (Mouly et al. 2008).

II.3 Les facteurs influençant la concentration et la composition des SPCs dans l'eau

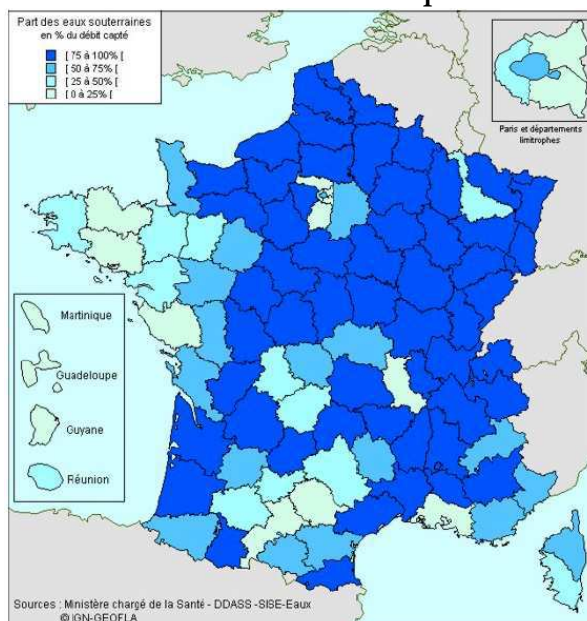
La quantité globale de sous-produits générés et l'importance relative des différentes familles dans le mélange généré lors du processus de désinfection de l'eau dépend du type de source de l'eau brute, des quantités relatives de matière organique naturelle, de chlore et de bromure en présence. D'autres facteurs tels que la température, le pH, le temps de contact entre la matière organique et le chlore sont des facteurs influençant la production des SPCs, à la fois en quantité et en qualité.

II.3.1 Les caractéristiques de l'eau brute

L'origine ou la source de captage de l'eau brute avant son traitement est un élément essentiel dans la formation des SPCs. On distingue les **eaux profondes** ou **souterraines** ou qui sont présentes dans les nappes phréatiques du sous-sol, des **eaux de surface** qui sont présentes à la surface du sol ou proches de la surface du sol (dans les cours d'eau et les lacs). Lorsque les deux types de ressources sont utilisés pour alimenter une usine de traitement ou que plusieurs usines utilisant des types de sources différents alimentent un même réseau de distribution, on parle **d'eaux mixtes**.

En France, 6,5 milliards de m³ d'eau sont prélevés dans le milieu naturel par environ 30 000 captages (DGS 1995) dont 95% pompent dans des nappes d'eau souterraine. Cependant, en volume, 1/3 de l'eau captée provient d'eau superficielle, majoritairement d'eaux circulantes (rivières). De fortes inégalités régionales existent en France, ainsi que le montre la carte ci-dessous (Figure 3). En Bretagne, lieu de recrutement de l'étude présentée dans le chapitre 3, la source de l'eau potable distribuée est essentiellement de l'eau de surface.

Figure 3. Part des eaux souterraines dans l'eau captée en France pour alimenter les réseaux d'eau distribuée selon les départements



Le type de source de l'eau brute détermine fortement la quantité et le type de matière organique présente dans l'eau.

La matière organique naturelle (MON) est le principal précurseur des SPC. Elle est constituée d'un mélange de composés organiques provenant de la décomposition de matériaux d'origine végétale, animale et microbienne présents dans le sol et dans l'eau. La quantité de sous-produits générés est fortement liée à la quantité de matière organique naturelle présente dans l'eau brute (mesurée par le carbone organique total, noté COT) et les doses de désinfectant requises pour traiter l'eau sont en général directement proportionnelles à la valeur en carbone organique dissous (COD) présent dans la MON.

La composition de la MON dépend fortement de la composition du sol et de la végétation entourant les rivières et les réservoirs, mais aussi des caractéristiques des effluents industriels éventuellement déversés. Les eaux issues de sources souterraines ont tendance à contenir moins de matière organique totale par rapport aux eaux de surface, qui sont directement soumises aux phénomènes de ruissellement et de lessivage de la terre (Whitaker et al. 2003a) ; (Sadiq and Rodriguez 2004). La composition de la matière organique présente est importante, notamment la dominance d'éléments humiques (acides humiques et fulviques) ou non-humiques car les acides humiques sont les plus réactifs vis-vis de la chloration (Reckhow et al. 1990). L'absorbance UV à 254 nm est un moyen d'identifier la nature de la matière organique, de fortes valeurs d'absorbance indiquant un fort caractère humique (Krasner 2009). L'indicateur SUVA qui rapporte le COT/absorbance UV caractérise la réactivité de la matière organique vis-à-vis du

chlore et est corrélé positivement à sa capacité à former des SPCs (Liang and Singer 2003). D'autres sources de matière organique ont tendance à apparaître comme la matière organique algale et celle issue du traitement des eaux usées avant relargage dans les rivières (Mitch et al. 2009).

La présence d'ions bromure dans l'eau brute est l'autre élément déterminant pour la composition du mélange de sous-produits générés (proportions de produits bromés ou chlorés). Le ratio d'ions bromures/COT semble impacter la composition du mélange de sous-produits généré (répartition entre produits bromés ou chlorés) (Krasner 2001).

La présence d'ions bromures dans les eaux brutes est liée par exemple à des infiltrations d'eau salée. Dans les eaux de surface prélevées en plaine, elle peut aussi résulter de productions industrielles ou agricoles. Les eaux de surface prélevées en altitude ont tendance à contenir moins d'ions bromures (Whitaker et al. 2003a). Les eaux profondes ont tendance à produire plus de THMs bromés par rapport aux eaux mixtes et de surface, alors que les eaux mixtes ont tendance à produire plus de BDCM et de DBCM (THMs à la fois bromés et chlorés) (Whitaker et al. 2003a). Lorsque les niveaux d'ions bromure sont élevés, les SPCs formés sont plus souvent bromés, de même, on observe plus de HAAs et de HANs (Krasner et al. 1989).

Le pH des eaux brutes est aussi un élément important : les milieux alcalins jouent un rôle de catalyseur pour la réaction entre le chlore et la MON. La revue réalisée par l'OMS (IPCS 2000) indique qu'en général, un pH plus élevé est associé à de plus grandes concentrations en THMs, mais à de plus faibles concentrations en HAAs, HANs et haloacétone. Ceci peut s'expliquer par une réaction compétitive, dans laquelle les pH élevés favorisent la dégradation des HAAs, HANs (IPCS 2000). Parmi les HAAs, le niveau d'acide trichloroacétique (TCAA) semble particulièrement impacté par le pH. Mais il est fait état de résultats discordants, montrant que les effets de ces différents facteurs se croisent et peuvent se neutraliser.

La température de l'eau est enfin un autre facteur déterminant, car comme dans toute réaction chimique, elle impacte la vitesse de réaction entre la MON et le chlore. Le taux de formation des THMs, HAAs, d'ions bromates et de HANs a tendance à augmenter avec la température. Cependant, il semble que cet élément joue plus sur la cinétique de réaction, que sur l'état d'équilibre final : l'effet de la température s'estompe avec la durée de réaction (Mouly et al. 2008).

II.3.2 Les caractéristiques du processus de traitement utilisé

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la formation de sous-produits au cours du processus de traitement des eaux est fortement influencée par le type et la quantité de traitement utilisé pour la désinfection. La chloration de l'eau peut intervenir à différents moments du processus de traitement, en désinfection primaire et/ou secondaire.

- **La préchloration de l'eau**

C'est un facteur important de production de SPCs, notamment de THMs. L'existence d'une phase de prétraitements mécaniques conventionnels des eaux brutes (par coagulation, floculation, sédimentation, filtration) ou leur combinaison et/ou remplacement par des méthodes avancées de type filtration par charbon actif, coagulation améliorée, filtration membranaire permet de réduire en amont la matière organique à traiter et de réduire la quantité de chlore utilisé, ce qui permet de limiter la formation de sous-produits (Sadiq and Rodriguez 2004).

- **Le type de désinfectant utilisé**

Il a un impact majeur sur le type de sous-produits créés et une importante littérature compare les sous-produits générés par les différents types d'oxydants (Hua and Reckhow 2007), (White 1999). Nous avons évoqué (I.3) les propriétés désinfectantes des oxydants les plus couramment utilisés en dehors du chlore gazeux que sont le dioxyde de chlore, les chloramines (principalement la monochloramine) et l'ozone. Le Tableau 1 indique pour chaque famille de SPCs les désinfectants les plus associés à leur production.

Par comparaison avec le chlore, le traitement par chloramines, dioxyde de chlore et l'ajout d'ozone ont tendance à réduire les niveaux de THMs et de HAAs : la teneur totale des eaux traitées en produits halogénés chlorés et bromés est décroissante selon l'ordre suivant : chlore >> chloramines > dioxyde de chlore (Mouly et al. 2010). Le dioxyde de chlore ne produit pas de THMs (Richardson et al. 2007). La combinaison de produits différents, aux différents stades du processus, comme la pré-ozonation avant chloration, permet de réduire la formation de THMs et de HAAs. La contrepartie est la production de produits bromés en plus grande quantité. De même, l'utilisation du dioxyde de chlore génère la production de chlorites.

L'utilisation de chloramines permet potentiellement d'éliminer la formation de SPCs. Contrairement au dioxyde de chlore, elles ne réagissent pas avec les phénols et ne forment donc pas d'odeurs et de goûts peu appréciés par les consommateurs, mais les chloramines produisent des nitrites (NO_2^-) et nitrates (NO_3^-) (IPCS 2000). L'utilisation de dioxyde de chlore peut aussi

réduire la formation de SPCs pendant la première désinfection. Mais la formation de chlorites (ClO_2^-) la rend dangereuse pour la santé (IPCS 2000). La combinaison d'ozone ou dioxyde de chlore en désinfection primaire avec des chloramines en désinfection secondaire peut être une stratégie de minimisation de la formation de SPCs. L'ozone suscite un grand intérêt comme désinfectant alternatif dans les pays riches du fait de son efficacité pour éliminer les micro-organismes pathogènes et de sa non-production de THMs dans l'eau uniquement ozonée et de plus faibles niveaux de THMs dans de l'eau pré-ozonée puis chlorée ou chloraminée, comparée à de l'eau chlorée seulement (Richardson et al. 1999).

II.3.3 Les variations spatiales des SPCs dans les réseaux de distribution

Il existe une forte variabilité spatiale des concentrations en SPCs au sein des réseaux de distribution, entre la sortie de l'usine de traitement et les points de distribution de l'eau. Le temps de séjour de l'eau dans les canalisations entraîne une augmentation de la concentration en THMs, mais une diminution ou stagnation de la concentration en HAAs et HANs (Chen and Weisel 1998). La présence éventuelle de postes de rechloration le long du réseau est aussi un facteur de variabilité des niveaux de THMs en relançant la production de nouveaux THMs lorsque de la matière organique réactive est encore présente dans les réseaux (Lee et al. 2007). Les niveaux de concentration en THMs peuvent ainsi augmenter d'un facteur variant de 2 à 6 entre la sortie de l'usine de traitement et le robinet des consommateurs (Chen and Weisel 1998), (Rodriguez and Serodes 2001), (Rodriguez et al. 2004), (Mouly et al. 2010). Une température ambiante élevée accentue ce phénomène.

Cette constatation a une importance particulière pour l'estimation de l'exposition des populations dans les études épidémiologiques car les niveaux de THMs peuvent être très différents au robinet d'individus desservis par un même réseau de distribution, mais à des distances de l'usine de traitement ou du point de chloration ou d'un point de mesure variables. L'effet de la position sur le réseau de distribution est directement lié au temps de contact entre le chlore et la matière organique, mais aussi à la vitesse d'oxydation de la matière organique par le chlore : si la vitesse est grande, le temps de séjour dans le réseau a moins d'impact sur le niveau de THMs.

La diminution des HAAs dans les réseaux est due aux micro-organismes présents dans les canalisations au niveau du biofilm qui peuvent dégrader les HAAs (Chen and Weisel 1998), (Bayless and Andrews 2008), même si les HAAs les plus fortement représentés dans les réseaux (TCAA et DCAA) semblent les moins sujets à cette dégradation.

II.3.4 Les variations saisonnières des SPCs

Dans les pays tempérés, les niveaux moyens de THMs connaissent une saisonnalité en relation avec les températures ambiantes et la composition de la matière organique qui varient au cours des saisons. Ainsi, les taux de SPCs ont tendance à être plus élevés à la fin de l'été et pendant l'automne et à décroître pendant l'hiver (Whitaker et al. 2003a), (Krasner et al. 1989), (Villanueva et al. 2007b), (Hinckley et al. 2005a), (Porter et al. 2005), (Rodriguez and Serodes 2001). Ceci s'explique par la conjonction de plusieurs facteurs : lorsque les températures sont élevées en été, on utilise plus de chlore dans les systèmes de distribution d'eau potable, afin de maintenir un niveau de chlore résiduel suffisant (les hautes températures ont en effet tendance à limiter la présence de chlore actif). Ce phénomène se conjugue avec l'effet catalyseur de la température pour les réactions chimiques à l'origine de la formation des SPCs. La saisonnalité des SPCs est liée à la météorologie locale, car le débit des cours d'eau et la température agissent sur les précurseurs des SPCs (de faibles débits sont associés à un accroissement de la matière organique naturelle). Les grandes variations observées au Sud Québec, supérieures à celles observées en moyenne aux Etats-Unis ou en Europe, sont liées aux fortes variations au cours de l'année de la qualité et de la température des eaux (Rodriguez et al. 2003).

Dans plusieurs études menées sur un réseau de distribution unique, la source de variation saisonnière apparaît plus importante que la variabilité géographique (position de la mesure sur le réseau de distribution) (Symanski et al. 2004) (Caroline du Nord), (Villanueva et al. 2007b) (France, Bretagne). Cependant, ces conclusions sont dépendantes de la façon dont est constitué l'échantillon : l'analyse de mesures réglementaires au Royaume-Uni (1992-1996) (Keegan et al. 2001) a montré que la variabilité inter-réseau était supérieure à la variabilité saisonnière, une autre étude aux Etats-Unis a observé un pic de THMs décalé vers le printemps (Lewis et al. 2007).

La plupart des études sur la saisonnalité des SPCs s'intéressent exclusivement aux THMs, mais dans celles qui mesurent aussi les fluctuations saisonnières des HAAs simultanément, la saisonnalité des deux classes de produits semble similaire, avec un pic de concentration durant l'été et le début de l'automne (Porter et al. 2005) (Lee et al. 2013). Mais l'étude de (Parvez et al. 2011) a observé plus récemment un pic des HAAs aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres et un minimum au 4^{ème} trimestre, alors que les THMs montraient un pic au 3^{ème} trimestre et un minimum au 1^{er} trimestre.

La prise en compte des éléments associés à la formation des SPCs dans l'eau distribuée a donné lieu à de nombreux travaux de modélisation, afin de prédire les niveaux de SPCs attendus en fonction de ces paramètres.

II.3.5 Les modèles prédictifs des concentrations en SPCs

L'identification des différents éléments associés à la formation des SPCs dans l'eau potabilisée a amené à construire des modèles permettant de prédire les niveaux attendus de ces produits avec différents objectifs : simuler les effets de nouvelles stratégies de traitement sur la production de SPCs, comme substitut aux mesures directes qui sont coûteuses, estimer les niveaux présents dans les réseaux afin d'estimer l'exposition de la population dans les études épidémiologiques : reconstitution historique des niveaux de THMs à partir de l'historique des processus de traitement utilisés, estimation des niveaux dans les parties des réseaux d'eau pour lesquelles on n'a pas de mesure réelle. Des modèles ont été développés pour prédire la formation de THMs, considérés comme marqueurs de la quantité globale de SPCs présents dans l'eau. En 2004, Sadiq et Rodriguez (Sadiq and Rodriguez 2004) ont réalisé une revue détaillée de la trentaine de modèles prédictifs publiés dans la littérature depuis les années 1980. La modélisation du niveau global de THMs (somme des 4 THMs) y est prépondérante, mais des SPCs particuliers comme le chloroforme ont aussi fait l'objet de modélisation. L'avantage de ces modèles multivariés par rapport à l'analyse facteur par facteur présentée ci-dessus est de permettre de mesurer le poids relatif de chaque facteur dans la détermination du niveau global. Globalement, on y retrouve comme variables prédictives la matière organique totale ou dissoute, l'absorbance UV à 254 nm, le pH, la température, la concentration en ions bromure, la dose de chlore, le temps de réaction. Des modèles basés sur des essais de laboratoire ou des mesures sur le terrain existent. Les essais en laboratoire permettent de contrôler les déterminants dans des conditions expérimentales. Ils présentent en général une meilleure capacité de prédiction, principalement du fait du contrôle des différents facteurs et de l'absence d'erreur de mesure que l'on retrouve dans les modèles à partir de données d'observations de terrain (Sadiq and Rodriguez 2004). Le temps de séjour hydraulique est un facteur important particulièrement difficile à estimer dans la réalité, car il nécessite la connaissance de la configuration physique du réseau de distribution (recours aux sociétés de distribution de l'eau). Ces différents modèles soulignent le rôle majeur de la quantité de chlore libre en sortie d'usine.

Les différents éléments liés à la teneur en SPCs de l'eau distribuée que nous venons d'identifier sont déterminants pour estimer les niveaux d'exposition de la population dans les études épidémiologiques, ainsi que nous le verrons plus loin.

II.4 Toxicologie des THMs et HAAs : les études expérimentales et animales

Les études épidémiologiques concernant les effets de l'exposition aux SPCs sur la santé humaine seront présentées dans chacun des chapitres consacrés à ce sujet.

En 2007, S. Richardson et coll. (Richardson et al. 2007) ont publié un état des connaissances synthétisant 30 ans de recherches sur l'occurrence et la toxicité de 85 SPCs, dont nous présentons ci-dessous les conclusions.

II.4.1 Génotoxicité

- **Les THMs**

La génotoxicité du chloroforme a fait l'objet de nombreux essais synthétisés par l'IARC (IARC 1999) qui indiquent que le chloroforme n'est ni mutagène ni génotoxique sur différentes matrices *in vivo* et *in vitro*.

Le bromodichlorométhane, le chlorodibromo- et le bromoforme n'induisent généralement pas de mutation de gènes dans les systèmes de test standard. Quelques études ont cependant montré des anomalies chromosomiques avec le chlorodibromométhane et des micronoyaux avec le bromoforme. Récemment, des études sur des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) classent la cytotoxicité des 4 THMs dans l'ordre suivant : BRF > DBCM > CLF > BDCM. De plus, il est à noter que contrairement au chloroforme, les trois THMs bromés deviennent mutagènes après activation par la Glutathione S-Transférase théta (GSTT1-1).

- **Les HAAs**

Deux acides halo-acétiques ont fait l'objet d'études approfondies : l'acide dichloroacétique et trichloroacétique. Dans les premières études, l'acide dichloroacétique n'a pas montré d'effet mutagène ou génotoxique chez les bactéries et des cellules de mammifère, *in vitro*. Mais des études d'exposition à l'acide dichloroacétique en systèmes fermés ou à des vapeurs d'acide trichloroacétique ont montré des associations positives pour de fortes concentrations. L'acide dichloroacétique n'a pas généré de dommage sur l'ADN de cellules de CHO ou de foie de

rongeurs in vivo. L'acide dichloroacétique a donc une faible génotoxicité à des niveaux élevés d'exposition.

L'acide trichloroacétique a montré des résultats généralement négatifs concernant les mutations de gènes chez les bactéries et les cellules de mammifère, et les dommages sur l'ADN in vitro. Quelques études ont montré un effet délétère (cassure de brins d'ADN ou anomalies chromosomiques) in vivo (IARC 2004). Deux études ont évalué 6 acides halo-acétiques sur la *salmonella*. Elles montrent que les composés bromés sont plus toxiques que leurs analogues chlorés et que la toxicité est décroissante avec le nombre d'atomes d'halogènes par molécule. Les acides halo-acétiques bromés sont plus mutagènes que les acides chlorés. Cette hiérarchie est aussi valable pour la toxicité.

II.4.2 Carcinogénicité

- Les THMs

Les 4 principaux THMs se sont révélés carcinogènes chez les rongeurs (rats et souris). Le mode d'administration utilisé était le gavage à l'huile de maïs, à des doses relativement élevées, mais pour le bromodichlorométhane et le chloroforme, une exposition via l'eau de boisson à des doses moins élevées a aussi été testée. Pour ces deux substances, l'exposition via l'eau de boisson n'a pas induit d'effet carcinogène chez la souris, mais chez le rat mâle, des tumeurs du foie et du rein ont été observées dans une étude récente (Nagano 2006). L'exposition par gavage au bromodichlorométhane a généré des tumeurs du rein et du foie chez la souris et des tumeurs du rein et de l'intestin chez le rat mâle et femelle. L'exposition au chloroforme par gavage a généré des tumeurs du foie chez la souris et du rein chez le rat. Une exposition combinée au chloroforme via l'eau de boisson et l'inhalation a été associée à des tumeurs rénales chez le rat mâle. En ce qui concerne le bromoforme et le chlorodibromométhane, testés uniquement par gavage, des tumeurs intestinales ont été trouvées chez le rat uniquement pour le bromoforme, des tumeurs du foie ont été observées chez la souris uniquement pour le chlorodibromométhane. Ces résultats sont résumés dans le Tableau 4.

On remarque qu'aucun des 4 THMs n'a généré de cancer de la vessie ou de tumeurs colorectales, alors que les études épidémiologiques que nous évoquerons par la suite se sont concentrées sur ces types de cancer. Cependant, il faut noter que les tumeurs du gros intestin observées chez le rat suite à une exposition au bromodichlorométhane et au bromoforme sont analogues d'un point de vue anatomique et fonctionnel à celles du colon chez l'homme.

En 1999, l'IARC a classé le chloroforme et le bromodichlorométhane dans la catégorie 2B, c'est-à-dire possibles carcinogènes pour l'homme. Le bromoforme et le dibromochlorométhane ont été quant à eux classés en 3, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas être classés comme carcinogènes pour l'homme (IARC 1999). De son côté, l'US-EPA (IRIS 2010) a classé le chloroforme, le bromodichlorométhane et le bromoforme en catégorie B2, c'est-à-dire carcinogènes probables pour l'homme et le dibromochlorométhane en catégorie C, c'est-à-dire possible carcinogène pour l'homme.

Le chloroforme est le seul THM régulé pour lequel le mode d'action est suffisamment documenté pour effectuer des analyses de risque : le chloroforme n'est pas génotoxique et les tumeurs se développent uniquement à des doses qui sont toxiques au niveau cellulaire, susceptibles de produire une mort cellulaire et une prolifération dans les tissus exposés.

- **Les HAAs**

En ce qui concerne les 5 principaux acides halo-acétiques, l'acide bromoacétique n'a pas fait l'objet de tests de carcinogénicité chez l'animal. L'acide chloroacétique n'a pas montré d'effet carcinogène chez le rongeur après une exposition par gavage ou eau de boisson. Par contre les acides dibromoacétique, dichloroacétique et trichloroacétique ont montré tous les trois un effet carcinogène pour le foie suite à une exposition via l'eau de boisson. L'acide dibromoacétique a de plus généré des leucémies et des mésothéliomes de la cavité abdominale chez les rats et des tumeurs au poumon chez la souris.

L'IARC a classé l'acide dichloroacétique comme un carcinogène possible (2B) chez l'homme. L'acide trichloroacétique ne peut être classé (not classifiable) comme carcinogène chez l'homme (IARC 2004). L'US-EPA IRIS considère l'acide dichloroacétique comme B2 (probable cancérigène pour l'homme), avec un mécanisme de non-génotoxicité.

Le Tableau 4 récapitule les effets carcinogènes des THMs et HAAs observés dans la littérature chez l'animal. Un résumé de l'occurrence, de la génotoxicité et carcinogénicité des THMs et HAAs est présenté dans le Tableau 5, il reprend le Tableau 8 de la publication de (Richardson et al. 2007)

Tableau 4. Carcinogénicité des THMs et des HAAs – Synthèse des effets observés dans les études animales (à partir de (Richardson et al. 2007), table 4)

Produit	Animal	Voie d'exposition	Types de tumeurs observées
Chloroforme	Souris	Gavage	Foie (M/F)
		Eau de boisson	Aucune
	Rat	Gavage	Rein (M)
		Eau de boisson	Rein (M)
Bromodichlorométhane	Souris	Gavage	Rein (M), foie (F)
		Eau de boisson	Aucune
	Rat	Gavage	Rein (M/F), intestin (M/F)
		Eau de boisson	Foie (M)
Bromoforme	Souris	Gavage	Aucune
	Rat	Gavage	Intestin (M/F)
Acide trichloroacétique	Souris	Eau de boisson	Foie (M)
	Rat	Eau de boisson	Aucune
Acide dichloroacétique	Souris	Eau de boisson	Foie (M)
	Rat	Eau de boisson	Foie (M)
Acide chloroacétique	Souris	Gavage	Aucune
	Rat	Gavage	Aucune
		Eau de boisson	Aucune
Acide dibromoacétique	Souris	Eau de boisson	Foie (M/F), poumon (M)
	Rat	Eau de boisson	Mésothéliome (M/F), leucémie (M)
Acide bromoacétique	Aucune étude		

M : chez le mâle ; F : chez la femelle

Tableau 5. Résumé qualitatif de l'occurrence, la génotoxicité et la carcinogénicité des THMs et des HAAs - Source : (Richardson et al. 2007), Table 8

SPC	Occurrence	Génotoxicité		Mutation chromosomique		Altération ADN		Carcinogénicité		Homme	
		Mutation gène		In vitro	In vivo	In vitro	In vivo	Rongeurs		IARC	EPA
		Bactéries	CM					souris	Rat		
THMs											
Bromodichlorométhane	****	+		-		+	-	+, -, -	+, +, -	2B	B2
Bromoforme	****	+	+	+	+	+	-	-	+	3	B2
Chlorodibromométhane	****	+	+	+		-		+	-	3	C
Chloroforme	*****	-	-	-	-	+		+, -	+, +, +	2B	
HAAs											
Acide chloroacétique	***	-	+	+		-	-	-	-, -		
Acide bromoacétique	***	+		+		+					
Acide dibromoacétique	*****	+		-	-	+		+	+		
Acide dichloroacétique	*****	+	+	-	-	-	-	+	+	2B	B2
Acide trichloroacétique	*****	-	-	+	+	-	-	+	-	3	

Occurrence : *** = niveaux très faibles (< 1 µg/L); **** = niveaux faibles (1-10 µg/L); ***** = niveaux faibles à moyens (10-10² µg/L)

Génotoxicité/ carcinogénicité : + = effet ; - = pas d'effet ; Classement IARC : 2B= carcinogène possible pour l'homme, 3= non classé carcinogène pour l'homme ; Classement EPA : B2=carcinogène probable pour l'homme, C=carcinogène possible pour l'homme

CM = cellules de mammifères

II.4.3 Reprotoxicité

Les premières études toxicologiques chez l'animal des effets potentiels néfastes des SPCs sur la reproduction et le développement sont apparues dès 1974. Quatre revues de la littérature toxicologique dans ce domaine ont été publiées à ce jour : (Mills et al. 1998), (Nieuwenhuijsen et al. 2000a), (Graves et al. 2001) et sa mise à jour en 2006 (Tardiff et al. 2006). Nous reprenons ici les résultats de ces deux dernières revues. La reprotoxicité concerne les effets sur la fertilité, le développement fœtal, la durée de gestation, les malformations congénitales, les avortements spontanés et fausses-couches, la mortalité in-utero.

- **Effets sur la croissance fœtale**

Le chloroforme a été plusieurs fois dans la littérature associé à des petits poids de naissance (Schwetz et al. 1974), (Thompson et al. 1974), (Murray et al. 1979), (Ruddick et al. 1983). Des retards de croissance ont aussi été observés pour les acides dichloro- et trichloroacétiques et dibromoacétique, de même que plusieurs HANs (Smith et al. 1989; Smith et al. 1992). Aucun effet n'a été trouvé pour le bromodichloro- et le chlorodibromométhane (Ruddick et al. 1983). Dans ces études, réalisées sur plusieurs espèces animales (rat, souris, lapin), les doses d'exposition étaient élevées, délivrées par gavage ou inhalation (chloroforme) et associées à une toxicité maternelle, les effets ne se manifestant pas pour des doses plus faibles (mais plus élevées que celles correspondant à une exposition humaine via l'eau de boisson) (Graves et al. 2001). Dans les mêmes études, en tenant compte de l'âge gestationnel (et mesurant ainsi le retard de croissance intra-utérin), les résultats sont moins convergents et ne permettent pas de conclure.

- **Effets tératogènes, anomalies congénitales**

Dans plusieurs études utilisant des niveaux et des voies d'exposition différents, aucun effet n'a été observé pour le chloroforme, le bromoforme, le bromodichloro et chlorodibromométhanes. Cependant, une étude a montré une association entre exposition au chloroforme par inhalation chez la souris et des fentes palatines (à fortes doses). Des malformations cardiaques ont été observées associées à une exposition à l'acide dichloro et trichloroacétique et trois HANs. Les autres anomalies observées dans quelques études sont des malformations du squelette associées avec le chloroforme, le TCAA et le DCAN ou des malformations rénales avec le DCAA ou urogénitales avec le TCAN et le DCAN.

- **Effets sur les morts fœtales in utero**

Des effets de l'exposition à plusieurs SPCs en début de gestation sont suggérés par différentes études animales. Des pertes fœtales ont été observées associées à une exposition maternelle à trois des THMs (CLF, BRF, BDCM), deux HAAs (TCAA et DCA) et deux HANs (DCAN, TCAN). De même, des portées réduites ont été observées avec une exposition au CLF et au BDCM. D'autres effets embryotoxiques ont été rapportés en association avec une exposition au chloroforme, le BDCM et trois HANs. Des effets fœto-toxiques, apparaissant plus tardivement dans la gestation, ont été observés chez la souris et le rat pour trois des THMs (CLF, BRF, BDCM), mais pas pour le BDCM. Encore une fois, tous ces effets ont été observés suite à une exposition à des niveaux élevés qui ont généré une toxicité maternelle.

III. L'exposition humaine aux SPCs

III.1 Les voies d'exposition aux THMs et HAAs

Trois voies d'exposition aux THMs et aux HAAs ont été identifiées: l'ingestion, l'inhalation et l'absorption cutanée (Nieuwenhuijsen et al. 2000b). Les propriétés chimiques des différents produits (notamment leur volatilité) déterminent les voies d'exposition dominantes de chacun. Des mesures (dans les urines, l'air exhalé, le sang) réalisées chez des individus ayant été exposés aux THMs et HAAs à travers différentes activités domestiques utilisant l'eau du robinet ont permis de montrer la présence de ces SPCs dans l'organisme et d'estimer les taux de passage dans l'organisme et la part relative des différentes voies d'exposition dans la dose interne totale.

III.1.1 L'ingestion

C'est la voie d'exposition la plus intuitive pour la population générale : l'eau du robinet est consommée en boisson froide ou chaude (thé, café, infusions) et pour la préparation des aliments. Les sous-produits de chloration qu'elle contient sont donc ingérés. Par rapport à la quantité de sous-produits de chloration présente dans l'eau du robinet, la quantité réellement ingérée peut être modifiée lors de la préparation de la boisson ou des aliments. Parmi les facteurs étudiés dans la littérature, on trouve la simple décantation, la réfrigération, le chauffage (ébullition) pour préparer les boissons chaudes et les aliments, l'utilisation de carafes ou systèmes filtrants. La prise en compte de ces éléments s'est révélée importante pour l'estimation de l'exposition des individus dans les études épidémiologiques (Nieuwenhuijsen et al. 2000b).

- **L'ébullition**

Le fait de faire chauffer voire bouillir l'eau du robinet peut modifier les niveaux des différents sous-produits de chloration présents dans l'eau ingérée, ainsi que l'ont montré de nombreuses expériences (Batterman et al. 2000), (Krasner and Wright 2005), (Wu et al. 2001), (Levesque et al. 2006), (Weinberg et al. 2006), (Carrasco-Turigas et al. 2013). Ces études s'accordent pour montrer une réduction de la concentration globale en THMs, plus ou moins marquée (de 30% à 98%), selon le temps d'ébullition. Par exemple, dans (Krasner and Wright 2005), la réduction de concentration globale en THMs est de 64% après une minute d'ébullition et de 93% après 2 minutes d'ébullition pour une eau traitée par chloration. Chaque THM subit individuellement une réduction du même ordre de grandeur lors de l'ébullition, avec une réduction d'au moins 84% après 2 minutes et d'au moins 97% après 5 minutes. Cette diminution de la teneur en THMs est due à leur caractère volatile. Pour ce qui est des HAAs (produits non-volatiles), les résultats des études sont moins concordants et l'effet de l'ébullition semble varier selon les sous-produits. Ainsi, la concentration en DCAA augmente après ébullition (+35%) alors que la concentration en TCAA diminue (de 42% en moyenne) (Levesque et al. 2006). Mais ce résultat peut varier selon le type de désinfectant utilisé, comme le montre l'étude de (Krasner and Wright 2005) dans laquelle la formation globale de HAAs s'accroît avec l'ébullition d'une eau chlorée, alors qu'elle diminue avec une eau chloraminée. L'augmentation de la concentration en DCAA lors de l'ébullition s'explique par la présence d'un résidu de chlore libre dans l'eau qui réagit avec les précurseurs de DCAA aussi présents. Par ailleurs, les études indiquent que la concentration des autres SPCs (HANs, haloaldéhydes) a tendance à diminuer lors de l'ébullition. D'autre part, on peut aussi noter que lors de l'ébullition, la vaporisation des SPCs dans l'air intérieur peut augmenter de fait l'exposition par inhalation de la personne qui fait la préparation (Lin and Hoang 2000).

- **La décantation**

L'effet de la décantation préalable de l'eau du robinet, au réfrigérateur ou à température ambiante a été testé dans plusieurs études (Batterman et al. 2000), (Weinberg et al. 2006), (Levesque et al. 2006), (Rahman et al. 2011). Pour les THMs, les résultats de la littérature indiquent que l'effet est modeste, mais l'étude de (Levesque et al. 2006) indique une baisse substantielle (43%) après un décanage assez long (48h) sans couvercle au réfrigérateur. Pour les HAAs, aucun effet significatif de la décantation n'est montré, ce qui semble cohérent avec le caractère non-volatile de ces produits.

- **La filtration**

L'utilisation d'une filtration de l'eau (en carafe, pour la plupart) a montré son efficacité pour réduire la teneur en THMs et en HAAs dans plusieurs études (Weinberg et al. 2006), (Levesque et al. 2006), (Rahman et al. 2011). Les taux de réduction rapportés pour les THMs sont supérieurs à 90% lorsque les filtres testés sont neufs et de l'ordre de 75% lorsque les filtres sont déjà usagés. Pour les HAAs, l'effet réducteur est un peu moins important, mais significatif, avec des taux de réduction de l'ordre de 70%. L'efficacité des filtres a cependant tendance à décroître avec leur âge, avec des taux de réduction des HAAs pouvant descendre à 50%. Des différences apparaissent selon les marques de filtres et les principes actifs utilisés (Weinberg et al. 2006). La différence d'efficacité des filtres entre les THMs et les HAAs provient de la plus grande solubilité des HAAs avec l'eau, les THMs étant plus facilement captés par le charbon actif présent dans les filtres. Au sein des THMs, les bromés semblent être plus efficacement filtrés (Carrasco-Turigas et al. 2013) du fait de leur plus faible solubilité, de même que le TCAA comparativement au DCAA (Levesque et al. 2006).

Plusieurs études expérimentales ont montré une relation entre la concentration en SPCs de l'eau du robinet, la quantité de SPCS réellement ingérée (quantité d'eau ingérée pondérée par sa concentration en SPCs) et les concentrations observées dans le sang et/ou l'air exhalé et/ou les urines (Weisel and Jo 1996) (chloroforme), (Backer et al. 2000) (les différents THMs), (Weisel et al. 1999) (les différents THMs et HAAs). Des corrélations significatives sont observées lorsque les éléments de préparation précédemment cités sont pris en compte pour estimer le niveau réel de THMs ou HAAs ingérés par les individus. Ceci est particulièrement vrai pour les HAAs dont la voie d'exposition est essentiellement par ingestion, comme nous allons le voir ci-après.

III.1.2 L'inhalation et l'absorption transcutanée

- **Les bains et les douches**

L'exposition aux THMs par l'inhalation de vapeurs d'eau et le passage transcutané lors des douches et des bains a été mise en évidence dans plusieurs études expérimentales ou en population qui ont montré une relation entre les concentrations des SPCs dans l'eau utilisée pour les douches/bains et leurs concentrations observées dans le sang et/ou l'air exhalé et/ou les urines avant et après une douche ou un bain (Xu and Weisel 2005), (Weisel and Jo 1996), (Backer et al. 2000), (Miles et al. 2002), (Weisel et al. 1999).

Pour être inhalés, les SPCs doivent d'abord être vaporisés dans l'air ambiant et seuls les plus volatiles sont présents dans les vapeurs d'eau, notamment le chloroforme qui présente un

taux de transfert dans l'air par rapport à l'eau de 56% (Xu and Weisel 2005). Les conditions dans lesquelles les douches et bains se déroulent sont une source de variabilité de l'exposition par inhalation : la ventilation et la taille de la pièce, la température de l'eau sont des éléments qui influent sur la concentration en chloroforme de l'air (Weisel and Chen 1994), (Jo et al. 1990), (Kerger et al. 2000). Les HAAs sont non volatiles aux températures habituellement utilisées pour les douches et les bains. L'exposition par inhalation peut donc être considérée comme négligeable pour les HAAs (Xu and Weisel 2003), de même que l'exposition par absorption cutanée (Kim and Weisel 1998). En effet, la perméabilité des HAAs au travers de la peau est très faible, comparativement aux THMs (le bromoforme ayant le coefficient de perméabilité le plus élevé et le chloroforme le plus faible) (Xu et al. 2002).

Des expériences ont permis de séparer les voies d'exposition au chloroforme (inhalation versus absorption transcutanée) lors de bains : une expérience consistant à faire respirer aux participants un air dépourvu de chloroforme pendant les bains a montré une augmentation du taux de chloroforme dans l'air exhalé après le bain, traduisant un passage transcutané, d'autant plus élevé que la température de l'eau était élevée (Gordon et al. 1998). Une autre expérience (Jo et al. 1990) a comparé la concentration en chloroforme de l'air exhalé après une douche normale et une exposition par inhalation seulement. Elle a estimé que la dose interne moyenne de chloroforme due à l'exposition trans-cutanée était approximativement équivalente à celle due à l'exposition par inhalation.

- **La piscine comme source d'exposition**

La fréquentation de piscines, couvertes ou découvertes, est une autre source d'exposition de la population aux SPCs, extérieure au domicile et non liée aux réseaux d'alimentation en eau potable, mais pour laquelle l'exposition aux SPCs via l'inhalation et le passage transcutané décrite précédemment s'applique aussi.

Pour faire face à la contamination des eaux de piscine par les baigneurs qui y apportent des micro-organismes, des substances organiques (salive, transpiration, urines, produits cosmétiques, etc ...) celles-ci doivent assurer un niveau de désinfection important. Le chlore est le désinfectant le plus fréquent, mais des traitements à base de brome ou d'ozone peuvent aussi être utilisés (Florentin et al. 2011). Les eaux de piscine présentent des taux assez élevés de SPCs (Chu and Nieuwenhuijsen 2002), (Aggazzotti et al. 1995), (Lee et al. 2010), (OMS 2006), (AFFSET 2010), (Richardson et al. 2010). La quantité et la composition des SPCs dans l'eau dépendent fortement, comme dans la ressource naturelle d'eau, de la technique de désinfection

utilisée, de la matière organique présente liée au nombre de nageurs accueillis et à la température de l'eau (Chu and Nieuwenhuijsen 2002). Le chloroforme est le produit le plus étudié, sa concentration dans les eaux de piscine mesurée dans des études de différents pays (Italie, Pays-Bas, Allemagne, Royaume-Uni, Etats-Unis) présente une valeur médiane de 52 µg/L avec une étendue importante [13-365 µg/L] (Whitaker et al. 2003b). L'air ambiant dans les piscines couvertes est lui-même chargé en SPCs, particulièrement en chloroforme. Les concentrations dans l'eau et l'air des principaux SPCs rencontrés dans les eaux des piscines sont synthétisées dans le Tableau 6.

Tableau 6. Concentrations des SPCs observées dans les piscines couvertes (d'après Florentin et al. 2011)

	(OMS 2006)	(AFFSET 2010)	(Richardson et al. 2010)
Air			
CLF(mg/m ³)	0,170	0,004-0,136	0,0119-0,0616
Trichloramine (mg/m ³)		0,2-0,3	0,17-0,43
Eau			
Chloramines (mg/L)		0,1-1,5	<0,21-1,39
THMs (µg/L)			
CLF	1,7-1630	6,2-140	8,4-20,8
BDCM	<0,1-100	1,5-8,7	9,3-26,8
DBCM	0,05-30	0,3-3	6,5-22,6
BRF	0,03-14	<0,5-2	3,0-16,5
HAAs (µg/L)			
MCAA	2,6-81	9,2-110	
DCAA	1,5-192	77-1000	
TCAA	3,5-199	104-320	
MBAA	<0,5-3,3		
DBAA	0,2-7,7	<5-16,5	

Abbreviations : THMs : trihalométhanes, CLF : chloroforme, BDCM : bromodichlorométhane, DBCM : dibromochlorométhane, BRF : bromoforme, HAAs : acides haloacétiques, MCAA : acide chloroacétique, DCAA : acide dichloroacétique, TCAA : acide trichloroacétique, MBAA : acide bromoacétique, DBAA : acide dibromoacétique

Pour les nageurs, la voie principale d'exposition est à la fois le passage transcutané (parce qu'une part importante de la surface corporelle est en contact avec l'eau) et l'inhalation de l'air au-dessus de l'eau. Le taux d'inhalation est lié à l'intensité de l'effort produit (Aggazzotti et al. 1993; Aggazzotti et al. 1995). Une étude a montré que l'ingestion d'eau de piscine était aussi une voie d'exposition possible (16 ml ingérés pour 45 minutes de nage chez un adulte) (Dufour et al. 2006), notamment pour les HAAs qui sont non-volatiles (Cardador and Gallego 2011).

III.1.3 Parts relatives des voies d'exposition

Des études ont permis de mesurer le poids relatif de l'ingestion par rapport à l'inhalation et le passage transcutané. L'étude expérimentale comparative de (Backer et al. 2000) sur l'exposition aux THMs via les 2 voies séparément (ingestion d'1 L d'eau du robinet pendant 10 minutes, douche pendant 10 minutes, ou bain pendant 10 minutes) a montré une augmentation significative des taux de chloroforme, de BDCM, de DBCM dans le sang des participants. L'augmentation des taux s'est révélée 10 fois plus importante après une exposition par les douches et les bains qu'après une exposition par ingestion. Une étude (Nuckols et al. 2005) prenant en compte 14 activités de la vie courante impliquant l'utilisation d'eau du robinet (ingestion d'eau froide et chaude, douches, bains, lavage du linge, lavage des mains, vaisselle, les douches de tierces personnes dans l'habitation) a montré que toutes ces activités avaient généré un doublement du niveau de THMs dans l'air exhalé ou le sang pour au moins un participant (sur 7 au total). Mais les sources d'exposition engendrant la plus forte augmentation de THMs dans le sang et l'air exhalé étaient la douche (exposition directe ou indirecte), le bain et la vaisselle. Ces résultats sont confirmés dans l'étude de (Rivera-Nunez et al. 2012).

Il apparaît donc que la voie d'exposition des différents SPCs dépend de leur classe et de leurs propriétés physiques. Pour les THMs (dont le chloroforme est le représentant majeur), l'exposition via les douches et les bains est dominante, alors que pour les HAAs (dont le TCAA), l'exposition a lieu très majoritairement via l'ingestion. D'un point de vue physiologique, il faut noter que les SPCs ingérés passent par le système digestif et sont métabolisés par le foie avant d'être distribués dans l'organisme par le système sanguin, alors que les SPCs pénétrant l'organisme par inhalation ou passage transcutané arrivent directement dans le système sanguin, sans transformation. Certains produits peuvent être entièrement transformés en différents métabolites dont les effets sanitaires sur les organes cibles sont différents des produits parents. Or des différences inter-individuelles de métabolisme, parfois associés à des polymorphismes génétiques, peuvent exister entre les individus et induire des variations dans les taux finalement en circulation dans l'organisme et les doses atteignant les organes cibles. Des taux de passage dans l'organisme (« uptake factors ») spécifiques aux SPCs (ou classes de SPCs) et aux voies d'exposition ont pu être estimés à partir des différentes études expérimentales évoquées ci-dessus (Backer et al. 2000), (Lynberg et al. 2001), (Nuckols et al. 2005), (Aggazzotti et al. 1995) et utilisés pour estimer l'exposition aux THMs et HAAs dans des études épidémiologiques (Villanueva et al. 2007b), (Savitz et al. 2006). Ils permettent d'estimer la dose interne de SPCs en circulation dans le sang suite à l'exposition aux THMs et HAAs via différentes voies.

III.2 L'évaluation de l'exposition individuelle aux SPCs

L'évaluation de l'exposition aux SPCs présente quelques difficultés dues aux spécificités évoquées précédemment :

- Les SPCs sont un mélange de produits aux propriétés chimiques et à la toxicité variables. La composition de ce mélange connaît de fortes variations spatiales et temporelles
- Les voies d'exposition sont multiples
- Il existe des variations intra et inter-individuelles de comportement vis-à-vis des sources d'exposition

III.2.1 La fenêtre d'exposition

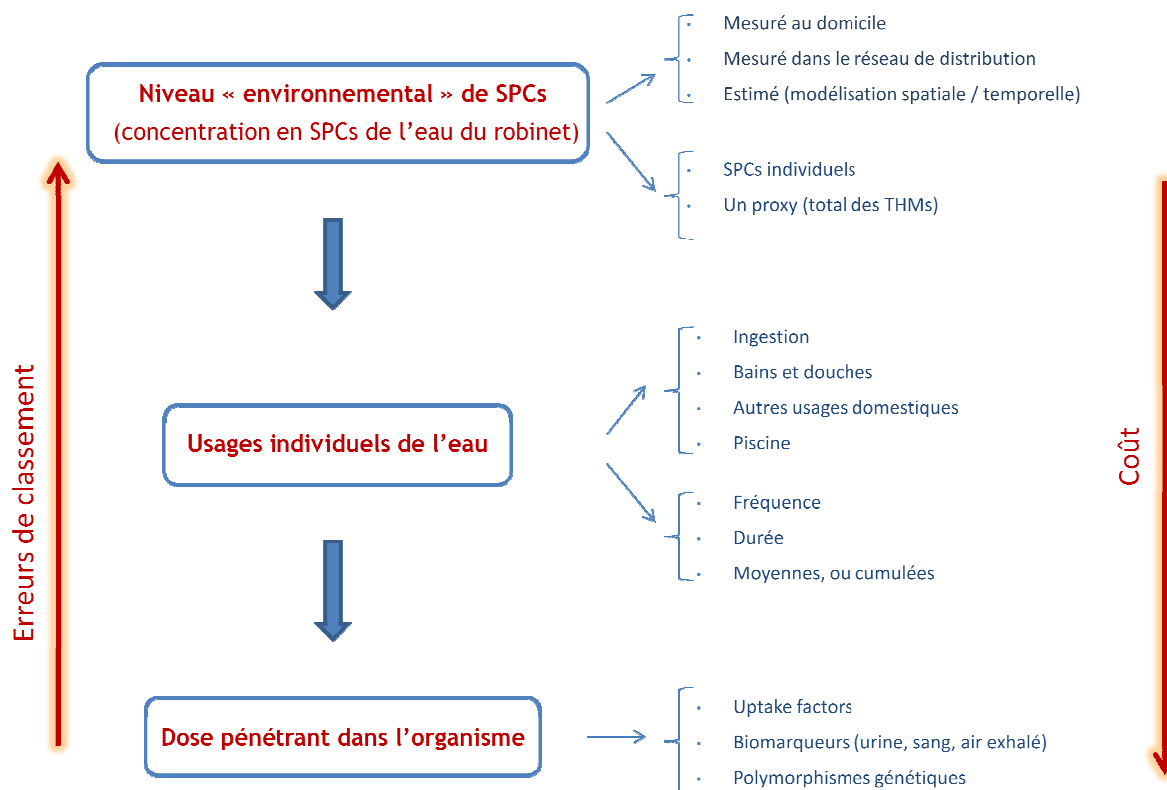
L'évaluation de l'exposition nécessite la définition d'une fenêtre pertinente pour l'événement de santé considéré. Dans cette thèse, nous nous intéressons à deux types d'événements de santé dont la temporalité et les mécanismes sont très différents. Le cancer de vessie est le résultat d'une exposition au long cours, tout au long de la vie, alors que les issues de grossesse sont le fruit d'une exposition au cours de la grossesse limitée aux 9 mois précédant l'événement. Les implications en termes de niveau et précision de mesure de l'exposition dans le cas de ces deux temporalités sont importantes.

III.2.2 Mesure directe et indirecte de l'exposition aux SPCs

L'évaluation de l'exposition aux SPCs a pour objectif d'estimer avec le moins d'erreur possible la quantité de SPCs à laquelle l'organisme d'un individu est exposé via l'utilisation d'eau chlorée, dans le but de mettre en relation son niveau d'exposition avec un événement de santé particulier.

Deux approches sont possibles pour connaître la dose à laquelle l'organisme de l'individu est exposé : soit indirectement, en reconstituant les différents éléments qui déterminent l'exposition avec des degrés divers de précision (Figure 4), soit en la mesurant directement par des prélèvements biologiques individuels. Jusqu'à la réalisation de cette étude, les études épidémiologiques publiées n'ont utilisé que la première approche (indirecte) qui fait appel aux éléments représentés sur la Figure 4.

Figure 4. Niveaux de mesure de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau dans les études épidémiologiques



Les revues de la littérature que nous avons réalisées dans le cadre de cette thèse comportent des études utilisant un degré de précision plus ou moins important pour la reconstitution de l'exposition des individus. Le niveau de précision utilisé dépend fortement de la fenêtre d'exposition à considérer (une vie entière ou quelques mois) et des informations auxquelles il est possible d'accéder.

• La reconstitution de l'exposition

Le niveau « environnemental » de SPCs correspond à la concentration en SPCs présente dans l'eau alimentant le domicile des individus. Ce niveau peut lui-même être estimé plus ou moins précisément, d'une mesure qualitative (type d'eau brute et type de traitement utilisé pour la potabiliser) jusqu'à une mesure au robinet des personnes participant à l'étude. La situation la plus courante est l'utilisation de mesures réalisées dans les réseaux d'eau desservant les domiciles. L'utilisation des seuls niveaux environnementaux pour estimer l'exposition individuelle est une

source d'erreurs de classement de l'exposition, car elle ne tient pas compte des usages que l'individu fait de l'eau du robinet qui arrive à son domicile.

La prise en compte des usages individuels de l'eau déclarés dans des questionnaires permet de réduire ces erreurs. Les usages de l'eau correspondant aux voies d'exposition décrites précédemment peuvent être pris en compte afin de quantifier plus précisément la quantité de SPCs en contact avec l'organisme. Ceux-ci sont collectés par des questionnaires décrivant les pratiques de l'individu en rapport avec l'eau (quantité d'eau bue, nombre et durée des bains et des douches, fréquentation de la piscine).

Une estimation de la dose présente dans l'organisme peut être reconstituée à l'aide de coefficients de passage des produits dans le sang spécifiques aux produits et aux voies d'exposition (« uptake factors »). Ces coefficients, disponibles dans la littérature toxicologique, peuvent être appliqués aux quantités de SPCs ingérés, inhalés, absorbés par la peau. Ils présentent l'inconvénient d'être des valeurs moyennes qui ne tiennent pas compte des métabolismes individuels qui peuvent varier fortement, et peuvent donc générer des erreurs de classement.

L'amélioration de la validité et de la fiabilité de l'estimation de l'exposition aux SPCs est une des préoccupations soulevées dans les discussions de toutes les études publiées. Les erreurs de mesure attachées aux méthodes d'estimation qui reconstituent l'exposition interne en partant des teneurs environnementales peuvent potentiellement expliquer les divergences de conclusions observées entre les études (Nieuwenhuijsen et al. 2009a). Elles se cumulent aux différents niveaux de la reconstitution de l'exposition : les niveaux environnementaux, la déclaration des usages de l'eau, les coefficients de passage dans l'organisme. Le raffinement des estimations à ces différents niveaux peut se révéler très coûteux et inapplicable dans des études épidémiologiques de grande ampleur.

- **L'estimation directe de la dose interne**

L'utilisation de mesures internes d'exposition à l'aide de biomarqueurs est une des voies prometteuses préconisées dans la littérature pour réduire les erreurs de classement (Savitz et al. 2006) (Arbuckle et al. 2002). Les biomarqueurs reflètent l'exposition via l'ensemble des voies d'exposition, sans les distinguer, y compris celles autres que l'eau de boisson, si elles existent. Le métabolisme, le caractère plus ou moins persistant (demi-vie) des produits peuvent induire une très forte variabilité intra-individuelle des concentrations observées (au cours d'une même journée, par exemple). La plupart des biomarqueurs reflètent une exposition récente (voire très récente) du fait d'une demi-vie assez courte dans l'organisme.

Pour être fiables et valides, les biomarqueurs d'exposition doivent être sensibles et spécifiques à l'exposition, techniquement mesurables, peu coûteux à mesurer, avoir une demi-vie correspondant à la fenêtre d'exposition supposée pour l'événement de santé, être liés quantitativement à la durée, à l'intensité et au mode d'exposition (Arbuckle et al. 2002). Des études se sont intéressées aux biomarqueurs des deux classes de SPCs les plus présentes dans l'eau chlorée : les THMs et les HAAs. Les caractéristiques de ces SPCs en termes de voie d'exposition et de métabolisation vont déterminer les matrices biologiques les plus pertinentes pour les mesurer.

Les THMs sont volatiles, rapidement absorbés et métabolisés en dioxyde ou monoxyde de carbone par le foie et aussi rapidement exhalés (Zhang et al. 2009), de sorte que des mesures de concentrations dans le sang ou l'air exhalé sont de meilleurs biomarqueurs que les dosages urinaires. Le passage assez rapide des THMs dans l'organisme nécessite que ce type de mesures soient faites peu de temps après l'exposition (les douches ou les bains, par exemple) afin d'obtenir des mesures fiables. La collecte de sang et d'air exhalé demande l'utilisation de techniques invasives qu'il est difficile de mobiliser dans des études épidémiologiques (coût, personnel mobilisé, consentement des participants). Les biomarqueurs de THMs ne sont donc pas de bons candidats pour être intégrés dans des études de grande ampleur.

Les HAAs, par opposition, sont non volatiles et plus persistants dans l'organisme que les THMs (une demi-vie de 1,2 à 6 jours après l'exposition chez les humains) (Froese et al. 2002), (Bader et al. 2004). Ils sont donc plus facilement mesurables dans les urines, qui sont aussi plus faciles à collecter dans le cadre d'une étude épidémiologique. Parmi eux, le TCAA s'est révélé le biomarqueur le plus prometteur. Il a été étudié comme biomarqueur de l'exposition chronique au TCAA présent dans l'eau de boisson chlorée par différents auteurs (Kim et al. 1999), (Weisel et al. 1999), (Froese et al. 2002), (Calafat et al. 2003), (Bader et al. 2004), (Zhang et al. 2009). Si les études transversales ont montré que l'excrétion urinaire de TCAA (premières urines du matin) était corrélée avec l'ingestion d'eau de boisson contenant du TCAA (Kim et al. 1999), (Weisel et al. 1999), l'étude longitudinale de (Froese et al. 2002) a montré que la variabilité intra-individuelle des concentrations en TCAA était aussi importante que la variabilité inter-individuelle. Mais l'étude de (Zhang et al. 2009) a montré que 2 mesures de TCAA urinaire dans un intervalle de 2 jours permettaient d'atteindre une fiabilité suffisante (coefficient de corrélation intraclass supérieur à 0,70) pour des comparaisons de groupes de population.

Ces études permettent donc d'envisager l'utilisation de ce biomarqueur pour estimer l'exposition au TCAA qui est un des SPCs les plus représentés dans les eaux chlorées. Le dosage

de biomarqueurs étant coûteux par rapport aux autres types de mesure d'exposition, dans les grandes cohortes épidémiologiques, il est souvent utilisé dans une sous-cohorte sélectionnée.

Ce premier chapitre de mise en contexte nous a permis de comprendre les éléments justifiant l'intérêt d'études épidémiologiques sur les effets sur la santé de l'exposition de la population aux sous-produits de chloration de l'eau : les conditions de leur formation, les facteurs influençant leur développement, leurs niveaux observés dans différent pays, mais aussi les résultats des études de toxicité *in vitro* et chez l'animal (carcinogénicité, génotoxicité, effets sur la reproduction) qui ont amené certains des SPCs à être classés potentiellement carcinogènes pour l'homme, ainsi que la mise en évidence d'une exposition humaine à ces produits via différentes voies et différents usages de l'eau potable chlorée distribuée dans les réseaux.

Nous allons maintenant présenter les deux études que nous avons menées dans ce contexte : l'une s'intéresse au risque de cancer de la vessie suite à une exposition à long terme à de l'eau chlorée, l'autre s'intéresse aux risques de restriction de croissance et de prématurité suite à une exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau. Chacune d'elles comportera une revue de la littérature épidémiologique disponible au moment de sa mise en œuvre.

CHAPITRE 2

EXPOSITION AUX SOUS-PRODUITS DE CHLORATION DE L'EAU ET CANCER DE LA VESSIE

I. Le cancer de la vessie

I.1 Définition

La vessie est une poche dans laquelle s'accumule l'urine excrétée par les reins. L'urine peut contenir des substances toxiques qui restent en contact prolongé avec la muqueuse qui tapisse l'intérieur de la vessie, l'urothélium (site www.cancer-environnement.fr, Centre Léon Bérard, Lyon).

Le cancer de la vessie est provoqué par la multiplication anormale de cellules de la paroi de la vessie. On distingue quatre types de tumeurs malignes :

- Le carcinome transitionnel, ou carcinome urothélial (90% des cas de cancers de la vessie). Il se forme dans les cellules transitionnelles qui tapissent l'intérieur de la vessie et qui constituent la muqueuse. Le plus souvent, la tumeur demeure dans cette couche superficielle de la vessie et le cancer est dit « superficiel ». Si la tumeur s'infiltré plus profondément dans la vessie et atteint la couche musculaire, on parle alors de cancer « infiltrant ».
- Le carcinome épidermoïde (ou malpighien) (6 % des cas)
- L'adénocarcinome (2 %)
- Le carcinome indifférencié (<1 %)

I.2 Epidémiologie du cancer de la vessie

En 2008, le cancer de la vessie était la 11^{ème} cause de cancer dans le monde, avec une incidence (standardisée sur l'âge) de 5,3 pour 100 000 (données GLOBOCAN 2008 (IARC) (Ferlay et al. 2010)). L'incidence la plus élevée est observée aux Etats-Unis (12,7 pour 100 000), en Europe (9 pour 100 000) et en Afrique du Nord (8,2 pour 100 000). Le cancer de la vessie est beaucoup plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. Dans la population européenne, il représente la 4^{ème} cause de cancer chez les hommes, avec une incidence de 16,7 pour 100 000 (taux standardisés par âge sur la population mondiale). L'incidence chez les femmes apparaît 5 fois plus faible, avec un taux de 3,2 pour 100 000, du fait d'une exposition moins importante aux différents facteurs de risque. Dans les pays occidentaux, le carcinome à cellules transitionnelles est le type de cancer le plus représenté (Bray et al. 2013).

I.3 Facteurs de risque du cancer de la vessie

Les facteurs de risque établis pour le cancer de la vessie sont :

- la consommation de tabac (de loin, la cause la plus importante, avec 53% des décès attribuables au tabac chez les hommes en 2006 en France, 39% chez les femmes),
- l'exposition à des carcinogènes chimiques, la plupart d'origine professionnelle (responsable de 10 à 25% des cas selon les études) (Imbernon 2003). Les produits incriminés appartiennent à deux familles : les amines aromatiques (AA) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Les amines aromatiques sont utilisées pour la synthèse de matières colorantes, de produits pharmaceutiques et cosmétiques, dans l'industrie du caoutchouc et de la plasturgie. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des constituants naturels du charbon et du pétrole et sont produits par leur combustion incomplète. Les professions exposant à des dérivés du pétrole, aux goudrons, aux huiles et brais de houille et aux suies de combustion du charbon (cokerie (fours), la fabrication d'aluminium, les travaux sur chaudières et foyers à charbon) sont considérées comme à risque pour le cancer de la vessie,
- l'arsenic présent dans l'eau de boisson, à des doses très élevées (Morales et al. 2000),
- certains médicaments (phénacétine, cyclophosphamide) ou une irradiation pelvienne,
- les lésions de bilharziose urinaire dégénérant en lésions malignes (cancer épidermoïde de la vessie, particulièrement répandu en Egypte et en Afrique de l'Ouest).

D'autre part, certaines mutations de gènes ont été identifiées comme facteur d'augmentation du risque de cancer de la vessie. Des associations ont été observées de manière récurrente entre le risque de cancer et deux gènes qui interviennent dans le métabolisme de différentes substances toxiques : le gène *NAT2* (N-acétyl transférase 2) et le *GSTM1* (glutathione S-transférase M1) (Garcia-Closas et al. 2005). Les individus ayant une modification du gène *NAT2* (lent) ont une capacité plus faible à détoxifier les amines aromatiques qui causent le cancer de la vessie. Le cancer de la vessie est l'un des premiers pour lequel des interactions gènes-environnement ont été mises en évidence (Gu and Wu 2011).

II. Etudes épidémiologiques sur la relation entre le cancer de la vessie et l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau (revue de la littérature)

Depuis 1974, de nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées à l'association entre l'exposition à long terme à l'eau traitée au chlore et le risque de cancer. Différents designs ont été utilisés : des études écologiques, des études cas-témoins basées sur des certificats de décès ou des registres de cancer, des études cas-témoins avec une collecte d'informations individuelles par questionnaire ou entretien, des études de cohorte. Ces études ont été menées dans différents pays, même si l'on note une forte représentation des études nord-américaines. La qualité de la mesure de l'exposition, ainsi que la prise en compte ou non de facteurs de confusion individuels sont des éléments essentiels qui distinguent ces études. Parmi les cancers étudiés en relation avec l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau, c'est le cancer de la vessie qui a accumulé le plus d'études et d'éléments suggérant la possibilité d'un lien causal avec l'exposition (Mills et al. 1998), suivi du cancer colorectal pour lequel quelques études ont montré une association répétée.

En 1991, l'IARC a évalué la carcinogénicité de l'eau chlorée pour les humains (IARC 1991). A cette époque, les études disponibles utilisaient une mesure de l'exposition aux SPCs très sommaire (type d'eau alimentant la région (profonde versus de surface), résidences urbaines versus rurales, eau chlorée versus eau non chlorée ...). De plus, cette exposition était souvent estimée au lieu de résidence au moment du décès ou du recrutement dans l'étude et ne reflétait pas les expositions passées au cours de l'histoire résidentielle. Même si un certain nombre de ces études ont suggéré une association entre l'exposition à une eau chlorée et le risque de cancer de la vessie en particulier, leurs faiblesses méthodologiques ont amené l'IARC à considérer ces éléments de preuve comme inadéquats pour conclure à la carcinogénicité de l'eau chlorée et à la classer en groupe 3. Par la suite, l'IARC a évalué séparément différents SPCs dans plusieurs monographies (Tableau 7), mais aucune de ces évaluations spécifiques n'a pu inclure de données épidémiologiques, aucune étude épidémiologique n'ayant examiné l'exposition à un SPC particulier.

Tableau 7. Classification des THMs et HAAs par l'IARC et l'US-EPA

	IARC* / US-EPA**	Monographie IARC
Eau potable chlorée	3/ -	Vol. 52 (1991)
THMs		
Chloroforme	2B / B2	Vol. 73 (1999)
Bromodichlorométhane	2B / B2	Vol. 52 (1991) et Vol. 71 (1999)
Dibromochlorométhane	3 / C	Vol. 52 (1991) et Vol. 71 (1999)
Bromoforme	3 / B2	Vol. 52 (1991) et Vol. 71 (1999)
HAAs		
Acide monochloroacétique	- -	-
Acide dichloroacétique	2B / B2	Vol. 84 (2004)
Acide trichloroacétique	3 / C	Vol. 84 (2004)
Acide monobromoacétique	- -	-
Acide dicromoacétique	- -	-

*Classement IARC : 2B = *carcinogène possible pour l'homme*, 3 = *non classé carcinogène pour l'homme* ;

**Classement EPA : B2 = *carcinogène probable pour l'homme*, C = *carcinogène possible pour l'homme*

Plusieurs études présentant une amélioration notable de l'estimation de l'exposition individuelle ont été publiées à partir des années 1990, qui permettent d'examiner une éventuelle relation dose-réponse. Elles utilisent toutes un indicateur global de l'exposition aux SPCs, le taux de TTHM estimé dans le réseau d'eau potable desservant les domiciles occupés tout au long de la vie des individus. Une exception notable est l'étude de Koivusalo (Koivusalo et al. 1998) qui utilise le potentiel mutagène de l'eau (test d'Ames) comme estimateur de l'exposition aux SPCs. La façon dont les concentrations passées en TTHM sont reconstituées varie d'une étude à l'autre (enquête auprès des entreprises qui distribuent l'eau, modélisation à partir de facteurs prédictifs liés au type d'eau et au traitement utilisé, extrapolation statistique, méthode Delphi, ...). Les études présentant une méthodologie pertinente d'estimation de l'exposition sont répertoriées dans le Tableau 8. Elles montrent toutes une augmentation du risque de cancer de la vessie associée à une mesure de l'exposition aux SPCS.

Tableau 8. Etudes étudiant l'association entre l'exposition aux SPCs et le risque de cancer de la vessie (1993-2007)

Etude	Design	Lieu	Effectifs	Mesure de l'exposition	Ajustements	Usages de l'eau	Résultats
(McGeehin et al. 1993)	Cas-témoins	USA, Colorado, 1988-1989	327 cas de cancer de la vessie incidents appariés (sur âge et sexe) avec 261 témoins atteints d'autres cancers	Niveaux de TTHM de 1989 utilisés pour expositions de 1926 à 1989, sans changement majeur de traitement, histoire résidentielle	Tabagisme, consommation d'eau du robinet et de café, antécédents médicaux	Oui Ingestion	Association avec la <u>durée d'exposition</u> à de l'eau de surface chlorée : OR=1,8 (1,1-2,9) pour 30 ans d'exposition par rapport à aucune exposition. Résultats identiques <u>pour les 2 sexes</u> , chez les fumeurs et non-fumeurs. Aucune association avec niveaux de TTHM, nitrates et résidus de chlore, après ajustement sur la durée d'exposition à de l'eau chlorée.
(King and Marrett 1996)	Cas-témoins, pop générale	Canada, Ontario, 1992-1994	696 cas incidents 1545 témoins appariés	Estimation des niveaux de TTHM de 1950 à 1990 par modèles incluant type d'eau brute et traitements de désinfection. Niveaux en été (max)	Age, sexe, paquets-années fumés (log), tabagisme à l'inclusion, niveau d'études, apport calorique par semaine	Oui Ingestion	Effet de la <u>durée</u> et de la <u>concentration</u> OR=1,41 (1,09-1,81) pour durée > 35 ans à une eau chlorée (vs <10 ans). OR=1,63 (1,08-2,46) pour durée > 35 ans et TTHM>50 µg/L OR=1,11 (1,02-1,21) pour 1000 µg/L-années OR=2,3 (1,1-4,7) pour >35 ans d'exposition en ingérant >2,1 µg/L par jour Pas de différence fumeurs/non-fumeurs Pas d'analyse par sexe
(Doyle et al. 1997)	Cohorte	USA, Iowa, 1986-1993	36127 femmes ménopausées (55-69 ans) suivies, 42 cas de cancer de la vessie	Qualitative : municipalités alimentées avec 100% eau profonde, eau mixte, 100% eau de surface, puits privés. Niveaux de CLF (proxy pour les THMs) affectés à ces catégories à partir de niveaux collectés en 1979 et 1986/1987 sur des réseaux de l'Iowa	Age, niveau d'études, paquets-années de tabac, activité physique, alimentation en fruits et légumes, apport énergétique total, IMC, ratio taille/hanche	Non (slt type d'eau bue)	Pas d'association significative avec le niveau de CLF moyen dans le réseau Etudes n'incluant que des femmes.
(Cantor et al. 1998)	Cas-témoins, témoins pop générale	USA, Iowa, 1986-1989	1123 cas incidents 1983 témoins	Estimation des niveaux historiques de TTHM par modèles incluant type d'eau brute, profondeur de la source, pré-post-chloration (modèles établis sur données de 1987).	Sexe, âge, niveau d'études, profession à risque, consommation de cigarettes	Oui Ingestion	Chez les <u>hommes</u> : OR=1,9 (1,3-2,8) pour durée >60 ans à de l'eau chlorée (vs jamais exposé) OR=1,5 (1,0-2,4) pour TTHM ≥46 µg/L Effet de la quantité de TTHM ingérée au cours de la vie. Effet de la durée supérieur à effet du niveau de TTHM Aucune association chez les femmes Effet chez les <u>fumeurs</u> seulement

Etude	Design	Lieu	Effectifs	Mesure de l'exposition	Ajustements	Usages de l'eau	Résultats
(Koivusalo et al. 1998)	Cas-témoins, pop générale	Finlande, 1991-1992	732 cas incidents 914 témoins	Indicateur = mutagénicité de l'eau estimée à partir du type de source d'eau et de traitement, reconstituée pour années antérieures	Age, niveau socio-économique, tabagisme	Oui Ingestion	Effet non-significatif du niveau moyen de mutagénicité et de la durée d'exposition chez hommes et femmes, mais OR=2,59 (1,13-5,94) <u>chez les hommes</u> non-fumeurs pour une augmentation de 3000 net révertants/litre. Pas de résultat sur ingestion
(Chevrier et al. 2004), (Cordier et al. 1993)	Cas-témoins, pop hospitalière	France, (7 hôpitaux) 1985-1987	281 cas et 272 témoins Issus de l'étude de (Cordier et al. 1993) 765 cas et 765 témoins	Estimation des niveaux historiques de TTHM reposant sur méthode Delphi (experts) et selon types d'eau brute et de traitement (préchloration, chloration après filtration)	Hôpital, âge, sexe, niveau socio-économique, statut tabagique, consommation de café, exposition professionnelle, quantité d'eau du robinet consommée	Oui Ingestion	Pas d'effet significatif de la durée d'exposition à une eau chlorée, du niveau moyen de TTHM et de l'exposition cumulée. Après ajustement sur la durée d'exposition à une eau ozonée, <u>chez les hommes</u> : Risque diminué associé à la durée d'exposition à une eau ozonée >10 ans ; OR=0,3 (0,1-0,7) Risque accru associé à un niveau de TTHM > 50 µg/L ; OR=3,7 (1,2-11) (vs <1 µg/L) et à une exposition cumulée >1500 µg/L-années ; OR=3,5 (1,2-10,6)
(Villanueva et al. 2007a)	Cas-témoins, pop hospitalière	Espagne (5 régions, 18 hôpitaux), 1998-2001	1219 cas incidents et 1271 témoins appariés	Extrapolation des niveaux antérieurs de TTHM à partir des niveaux actuels, sous hypothèse de non-modification des sources d'eau et stratégies de désinfection (informations sur année de démarrage de la chloration, type d'eau utilisée pour chaque réseau)	Age, sexe, statut tabagique, niveau d'études, caractère urbain de la plus longue résidence jusqu'à l'âge de 18 ans, qualité de l'entretien, région	Oui, Ingestion, Bains/douches Piscine	Chez les <u>hommes</u> uniquement, risque accru : OR=2,5 (1,4-4,0) pour un niveau moyen de TTHM >49 µg/L (vs ≤8 µg/L) OR=2,2 (1,2-4,2) pour une durée >30 ans (vs <3 ans) Différentes voies d'exposition : OR=2,0 (1,2-3,3) pour l'exposition via les douches et les bains (durée des douches pondérée par niveau de TTHM>333 vs <50 min/jour x µg/L) OR=1,6 (1,1-2,4) pour une ingestion quotidienne moyenne de TTHM > 35 µg/jour (vs 0) OR=1,6 (1,2-3,3) chez les nageurs vs les non-nageurs en piscine

Etude	Design	Lieu	Effectifs	Mesure de l'exposition	Ajustements	Usages de l'eau	Résultats
(Bove et al. 2007)	Cas-témoins, pop générale (Lynch et al. 1989)	USA, Etat de New-York	182 cas et 385 témoins appariés, hommes 1979-1985	Adresses à l'inclusion (faible mobilité supposée de la population). Deux méthodes d'estimation du niveau de THMs dans les réseaux : Extrapolation des mesures (1998-2003) de THMs par krigeage ou temps de séjour de l'eau dans le réseau après chloration est utilisé comme indicateur de niveau de DBPs.	Age, consommation de tabac (paquets-années), apport en carotène, consommation d'eau via l'alimentation, apport en fibres, consommation d'alcool.	Oui, ingestion	Etude n'incluant <u>que des hommes</u> Augmentation du risque associé au niveau de TTHM, de BDCM, de BRF et de CLF dans les réseaux OR=2,3 (1,0-3,7) pour le 4 ^{ème} quartile de TTHM (>74 µg/L) OR=2,5 (1,2-4,5) pour Q4 de BDCM (>18,8 µg/L) OR=3,05 (1,5-5,6) pour Q4 de BRF (>1,2 µg/L) OR=2,6 (1,3-4,7) pour Q4 de CLF (>38,5 µg/L) Relations doses-réponses observées OR=5,85 (1,9-17,5) pour les gros consommateurs d'eau en fin de réseau de distribution (Q4 de la durée de séjour hydraulique x nombre de tasses d'eau du robinet/jour)
(Villanueva et al. 2003)	Méta-analyse, 6 études cas-témoins, 1 cohorte			Durée d'exposition à une eau chlorée (ou source d'eau pour l'étude de cohorte)			Effet observé <u>chez les 2 sexes</u> Exposition vs non-exposition : OR=1,4 (1,1-1,9) Exposition de 1 à 40 ans : OR=1,3 (1,0-1,7) (vs jamais exposé) Exposition >40 ans : OR=1,6 (1,2-2,2) (vs jamais exposé) OR pour une augmentation de la durée d'exposition de 20 ans = 1,1 (1,1-1,2), de 40 ans = 1,3 (1,2-1,4), de 60 ans = 1,4 (1,3-1,7)
(Villanueva et al. 2004)	Analyse poolée 6 études cas-témoins			Niveau moyen de TTHM dans les réseaux Exposition cumulée via l'ingestion Durée d'exposition à une eau chlorée	Age, sexe, statut tabagique, exposition professionnelle, forte consommation de café, niveau d'études, consommation totale de liquides	Oui	Effet <u>chez les hommes uniquement</u> Niveau moyen de TTHM réseau OR=1,4 (1,2-1,7) pour TTHM>50 µg/L OR significatifs dès 5 µg/L, relation dose-réponse Ingestion cumulée OR=1,5 (1,2-1,9) pour >1000 mg OR significatifs dès 15 mg, relation dose-réponse Durée d'exposition OR=1,6 (1,2-2,2) pour >30 ans

L'étude de (McGeehin et al. 1993) montre un risque accru de cancer de la vessie avec la durée d'exposition à une eau de surface chlorée supérieure à 30 ans. L'effet est observé chez les hommes et chez les femmes, les fumeurs et les non-fumeurs. Le niveau moyen de TTHMs ne montre pas d'association avec le risque, après ajustement sur la durée d'exposition. La quantité d'eau du robinet bue sert de variable d'ajustement.

L'étude de (King and Marrett 1996) montre un risque accru de cancer de la vessie pour les individus exposés à une eau de surface chlorée pendant plus de 35 ans par rapport aux individus exposés moins de 10 ans. Les individus exposés à un niveau moyen de TTHM $\geq 50 \mu\text{g/L}$ pendant au moins 35 ans ont un risque accru par comparaison avec les individus exposés moins de 10 ans à cette même concentration. On observe à la fois un effet de la durée et du niveau d'exposition. La quantité de TTHM ingérée quotidiennement ne présente pas d'association claire avec le risque, mais des odds-ratios supérieurs à 2 sont observés chez les plus gros consommateurs d'eau du robinet ($>1,5 \mu\text{g/L/jour}$) exposés plus de 35 ans à une eau contenant plus de $50 \mu\text{g/L}$ de TTHM. Aucun résultat par sexe n'est présenté. L'effet du tabac n'est pas retrouvé dans cette étude.

L'étude de cohorte de (Doyle et al. 1997) s'est intéressée à la survenue de cancer en lien avec l'exposition aux SPCs dans l'eau du robinet chez des femmes ménopausées uniquement (28237 femmes). Le chloroforme sert de proxy pour l'exposition globale aux SPCs, car il est le plus prévalent. Une association dose-réponse entre le niveau moyen dans le réseau est observée pour le cancer du colon, mais pas pour le cancer de la vessie. La consommation d'eau du robinet n'est pas prise en compte dans cette étude.

L'étude de (Cantor et al. 1998) montre une augmentation du risque associée à une durée croissante d'exposition à de l'eau chlorée, à un niveau moyen de TTHM estimé dans les réseaux d'eau et à la quantité moyenne de TTHM ingérée au cours de la vie. L'effet de la durée d'exposition y apparaît plus important que l'effet du niveau moyen de TTHM. Ces associations sont observées uniquement chez les hommes et chez les fumeurs.

L'étude de (Koivusalo et al. 1998) ne montre pas d'association significative chez les hommes et les femmes entre le niveau moyen de mutagénicité de l'eau au cours des 30 années d'exposition (mesurée en net revertants/L) et le risque de cancer de la vessie. Mais une augmentation significative du risque est observée pour une augmentation de 3000 net rev /L chez les hommes non-fumeurs. La durée d'exposition à une eau mutagène ($>3000 \text{ net rev /L}$) montre une tendance croissante significative avec le risque de cancer de la vessie. Les effets de l'ingestion d'eau du robinet chlorée ne sont pas étudiés.

En 2000, à la suite d'une revue de la littérature disponible, l'IPCS de l'OMS concluait toujours à l'absence de preuves suffisantes concernant le caractère carcinogène pour les humains de l'eau chlorée, des THMs, du chloroforme ou des autres SPCs (IPCS 2000).

En 2003, une première méta-analyse réalisée par C. Villanueva a permis de synthétiser les résultats des études épidémiologiques reposant sur une évaluation satisfaisante de l'exposition (Villanueva et al. 2003). Six études cas-témoins et deux études de cohorte ont été retenues. La mesure d'exposition retenue pour les études cas-témoins était la durée d'exposition à une eau du robinet chlorée. Pour les deux études de cohorte, le type de source d'eau était utilisé (eau de puits, eau profonde, mixte ou de surface). La méta-analyse montre une association significative entre le fait d'avoir été exposé à de l'eau chlorée et le risque de cancer de la vessie, chez les hommes et les femmes (OR respectifs de 1,4 [1,1-1,9] et OR=1,2 [0,7-1,8]). Une tendance linéaire a de plus été mise en évidence indiquant que le risque de cancer de la vessie augmente avec la durée de l'exposition. L'effet observé semble plus élevé chez les hommes.

L'étude de (Chevrier et al. 2004) menée en France en 2004 est la seule étude prenant en compte l'ozonation de l'eau lors du processus de traitement. Elle montre une augmentation significative du risque de cancer de la vessie avec la durée d'exposition à une eau chlorée et avec le niveau moyen de TTHM présent dans l'eau, après ajustement sur la durée d'exposition à une eau ozonée. La durée d'exposition à une eau ozonée apparaît en revanche comme un facteur réduisant significativement le risque de cancer de la vessie, avec et sans ajustement sur l'exposition à une eau chlorée. L'effet est observé chez les hommes uniquement (mais les effectifs de femmes sont très faibles (41 cas)). L'effet de l'ingestion (moyenne ou cumulée) de TTHM n'est pas abordé (la consommation d'eau du robinet sert de covariable d'ajustement).

En 2004, C. Villanueva a réalisé une analyse poolée utilisant les données de six études cas-témoins réalisées entre 1989 et 2003 aux Etats-Unis (2 études), au Canada (1 étude), en Finlande (1 étude) et en France (1 étude). Ces études répondent aux critères de sélection suivants : études cas-témoins de cas incidents, disponibilité d'informations détaillées sur l'exposition à long terme aux THMs (utilisé comme représentant du mélange de SPCs) et accès possible aux données brutes des études (Villanueva et al. 2004). Des informations sur les facteurs de confusion potentiels tels que le fait d'avoir exercé une profession à risque pour le cancer de la vessie, le fait de fumer ou d'avoir fumé, la consommation de café, le statut social et le niveau d'études devaient aussi être disponibles. L'analyse a finalement inclus 8060 individus (2806 cas et 5254 témoins). Les données de ces études ont été poolées et ré-analysées ensemble afin d'évaluer la relation entre l'exposition à long terme aux THMs et le risque de cancer de la vessie. Les résultats indiquent une

augmentation du risque de cancer de la vessie uniquement chez les hommes, associée à différentes mesures d'exposition : le taux moyen de THMs présents dans l'eau du robinet au cours des 40 années d'exposition, la durée d'exposition à une eau de surface chlorée et l'exposition cumulée aux THMs (mg de THMs) au cours de la fenêtre d'exposition. Ainsi, un OR de 1,44 [1,20-1,73] est observé chez les hommes exposés à une teneur moyenne en THMs de l'eau du robinet supérieure à 50 µg/L, par comparaison avec les hommes exposés à une teneur inférieure à 1 µg/L.

En 2007, une nouvelle étude cas-témoins importante (1219 cas et 1271 témoins recrutés en 1998-2001) a été publiée en Espagne par C. Villanueva (Villanueva et al. 2007a). Elle se distingue des autres études par une spécification de l'exposition selon les différentes voies possibles : l'ingestion, les bains et les douches et la fréquentation de la piscine. Elle montre une association entre le niveau de THMs moyen au robinet et le risque de cancer de la vessie, chez les hommes, avec une tendance linéaire croissante. L'OR des hommes exposés en moyenne à une concentration supérieure à 50 µg/L par rapport aux hommes non-exposés ou à une concentration inférieure à 8 µg/L est de 2,53 [1,23-5,20]. L'association avec la durée de l'exposition à une eau de surface chlorée ne montre pas de réelle tendance. La durée des douches et des bains, pondérée par la concentration de l'eau du robinet en THMs, est associée significativement au risque de cancer de la vessie, chez les hommes. On observe une tendance linéaire significative et l'OR du dernier quartile d'exposition par rapport au premier quartile d'exposition est de 2,01 [1,23-3,28].

La dernière étude cas-témoins sur le cancer de la vessie disponible avant notre travail a été publiée en 2007 (Bove et al. 2007). Elle n'inclut que des hommes. Elle montre un doublement du risque de cancer de la vessie associé au dernier quartile des concentrations en TTHM, en bromodichlorométhane et en chloroforme estimées dans les réseaux et un triplement du risque pour le dernier quartile du niveau de bromoforme. Une relation dose-réponse est visible. La particularité de l'étude est de prendre en compte le temps de séjour de l'eau dans le réseau après sa chloration comme indicateur du niveau de THMs aux domiciles des individus. Une augmentation importante du risque de cancer est observée chez les individus qui résident en fin de réseau de distribution (un OR de 5,85 [1,93-17,46] est observé pour les plus gros consommateurs d'eau habitant le plus loin sur le réseau de distribution) dans une des régions impliquées dans l'étude (Etats-Unis, Monroe County). Mais une limite importante de cette étude est l'absence d'historique résidentiel : le lieu de résidence considéré est celui déclaré au moment de l'inclusion dans l'étude.

III. Une analyse « poolée » européenne

III.1 Le projet européen HiWate

En 2007, la Commission Européenne a financé le projet de recherches intitulé HiWate (Health Impacts of Long-Term Exposure to Disinfection By-Products in Drinking-Water) (Nieuwenhuijsen et al. 2009b) (site : www.hiwate.eu) afin d'estimer au niveau européen les risques sanitaires potentiels associés à l'exposition aux SPCs, sur la base d'études européennes existantes ou la collecte de nouvelles données. Un volet de ce projet était consacré au cancer de la vessie (WP6 : « Epidemiological studies of bladder cancer » : pooled analysis of European case-studies), nous avons réalisé le travail présenté ci-après dans le cadre de ce projet.

III.2 Justification et objectifs de l'analyse sur le cancer de la vessie

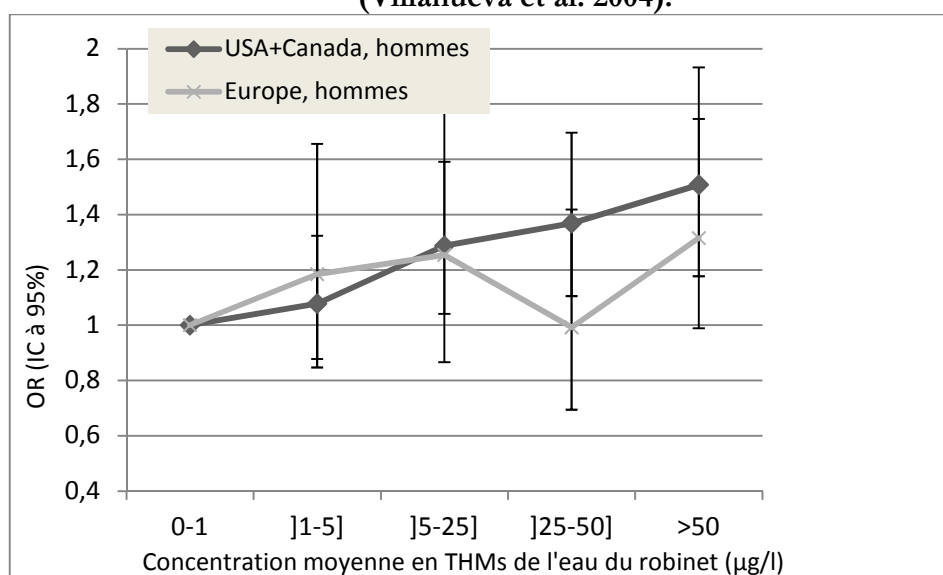
Cette étude est une analyse poolée (et une méta-analyse) des données issues exclusivement d'études européennes afin de questionner l'existence d'une éventuelle relation dose-réponse spécifique à l'Europe et d'en utiliser les paramètres dans un objectif plus large d'une analyse bénéfice-risque. L'hypothèse de l'existence d'une spécificité européenne est basée sur deux types d'arguments :

D'une part, la grande majorité des études publiées sont issues de données américaines. Or des différences existent a priori entre l'Europe et le continent Nord-Américain en ce qui concerne la qualité de l'eau brute et les pratiques de désinfection mises en place historiquement (US EPA 1999), (US EPA 2000), (Amy et al. 2006), (Le Pallouë and Langlais 1999). L'utilisation du total des THMs (TTHM) comme indicateur global d'exposition aux SPCS cache une variété de mélanges précisément liés à la nature de l'eau brute et à son traitement. Historiquement, les usines de traitement nord-américaines utilisaient un traitement « conventionnel » (sans ozonation, ni filtration sur charbon actif) à base de chlore comme désinfectant primaire, souvent appliqué avant toute élimination de la matière organique. Cela était particulièrement le cas avant la législation sur les THMs de 1979, mais a pu perdurer jusqu'aux réglementations de 1996 et 2006 (Stage 1 and Stage 2 DBP Rules). De plus, les niveaux de chlore résiduel maintenus dans les réseaux sont légalement plus élevés aux Etats-Unis qu'en Europe (Stuart Krasner, communication personnelle dans le cadre du projet HiWate). Au Canada (Ontario notamment), l'utilisation de la préchloration avant élimination de la matière organique était aussi répandue. L'utilisation d'ozonation et de filtration s'est par contre développée plus tôt en Europe (Pays-Bas, France). Le niveau et la composition du mélange de SPCS formé dans les eaux européennes, bien

que soumis aussi à des variations inter-régionales, peut donc différer de celui observé dans les études américaines.

Le deuxième argument est plus empirique : l'examen détaillé des données incluses dans l'analyse poolée de (Villanueva et al. 2004) nous a montré que l'association significative entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie était principalement observée pour les études américaines dont les effectifs étaient dominants. Une stratification de l'analyse en deux analyses séparées a montré une association dose-réponse beaucoup moins nette pour les études européennes (Figure 5).

Figure 5. Association entre la concentration moyenne de THMs de l'eau du robinet et le risque de cancer de la vessie, chez les hommes. Etudes européennes (Finlande, France, Italie) et Nord-Américaines (USA, Canada). Données de l'analyse poolée originale (Villanueva et al. 2004).



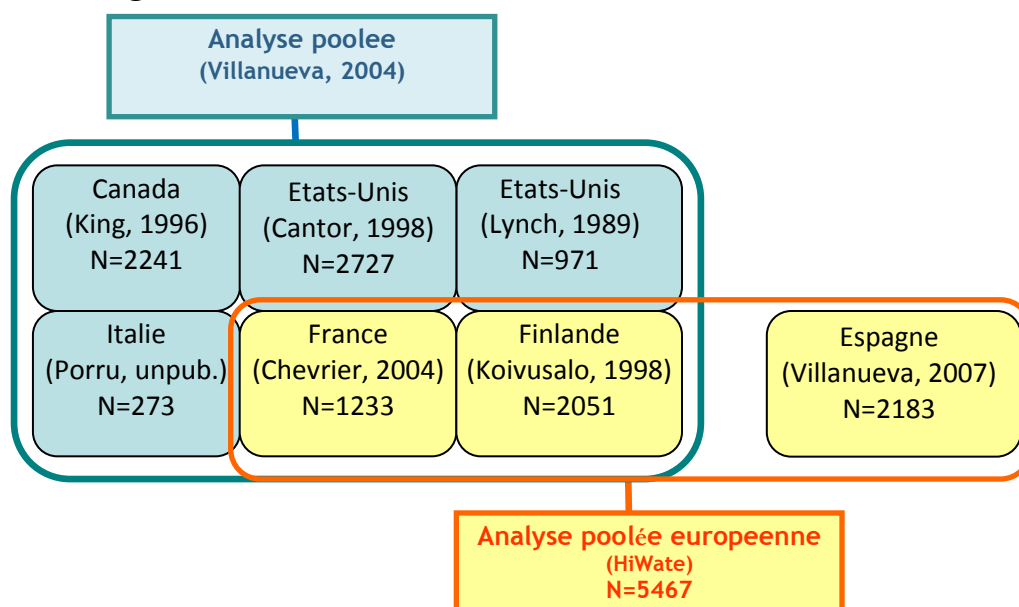
De plus, l'étude de Porru (non-publiée) conduite en Italie présentait des niveaux de THMs extrêmement faibles en raison d'un mode de désinfection de l'eau potable différent (chloramination). Dans ce cas, les concentrations en TTHM sont un mauvais marqueur de la présence de SPCs. La totalité des observations (cas et témoins) de cette étude se trouvaient donc dans la catégorie de référence des non-exposés, ce qui perturbait l'estimation des ORs des autres catégories d'exposition.

La disponibilité d'une étude européenne supplémentaire (espagnole) (Villanueva et al. 2007a), de taille importante, permettait donc d'envisager une analyse poolée de données européennes plus informative.

III.3 La base de données HiWate

La base de données analysée dans ce projet est constituée de deux des trois études européennes incluses dans l'analyse poolée de 2004 (Villanueva et al. 2004) et de l'étude espagnole de 2007 (Villanueva et al. 2007a) (Figure 6).

Figure 6. Constitution de la base de données de l'étude HiWate



Les trois études cas-témoins européennes analysées regroupent au total 5467 individus (2381 cas et 3086 témoins) âgés de 30 à 80 ans au moment du diagnostic ou de l'inclusion.

Tableau 9 . Composition de la base de données poolée HiWATE

Pays	Etude	Dates de recrutement	Cas	Témoins	Total (%)
France	Cordier, 1993 Chevrier, 2004	1984-1987	567	666	1233 (22,6)
Finlande	Koivusalo, 1998	1991-1992	759	1292	2051 (37,5)
Espagne	Villanueva, 2007	1998-2001	1055	1128	2183 (39,9)
Total			2381	3086	5467 (100)

III.4 Description des études

III.4.1 L'étude Finlandaise (Koivusalo et al. 1998)

Cette étude cas-témoins inclut 759 cas de cancer de la vessie histologiquement confirmés et 1292 témoins issus de la population générale pour lesquels le niveau d'exposition pouvait être estimé pour au moins 30 années entre 1950 et 1988. Les cas ont été diagnostiqués en 1991 et 1992 et déclarés dans le Registre des Cancers Finlandais avant décembre 1993. La sélection des témoins s'est faite par sondage aléatoire dans le registre national de population. Les témoins sont appariés selon l'âge (par tranches de 5 ans) et le sexe. Un questionnaire a été envoyé à tous les participants (ou aux proches des personnes décédées avant décembre 1994) afin de collecter les informations concernant leur histoire résidentielle, professionnelle, leur consommation de tabac, d'eau, de café et autres boissons et leur statut socio-économique.

Estimation du niveau environnemental de THMs

Les informations sur l'histoire résidentielle des participants du questionnaire ont permis de collecter auprès des autorités locales et des fournisseurs d'eau les pratiques de traitement des eaux distribuées dans les réseaux, au moment de l'étude et historiquement par le passé. Dans cette étude, c'est le niveau de mutagénicité de l'eau (en net revertants / litre) (test d'Ames) qui a été estimée à l'aide d'un modèle prédictif incluant la qualité de l'eau brute (pH, quantité de MON, couleur, ...) et le traitement utilisé (dose de chlore) (Koivusalo et al. 1994). Le niveau de mutagénicité de l'eau a été estimé pour chaque participant, par période de 5 ans entre 1950 et 1987. La conversion du taux de mutagénicité en concentration en THMs a été effectuée en appliquant un coefficient de corrélation liant ces deux éléments (Villanueva et al. 2004).

III.4.2 L'étude Française (Cordier et al. 1993; Chevrier et al. 2004)

Cette étude reprend les données d'une étude cas-témoins multi-centrique (Cordier et al. 1993) incluant initialement 765 cas et 765 témoins recrutés en milieu hospitalier entre 1985 et 1987. Les cas ont tous été histologiquement confirmés et 95% de ces cas sont des carcinomes transitionnels. Les participants ont été recrutés dans 5 régions françaises. Chaque cas s'est vu apparier un témoin admis dans le même hôpital, sur le sexe, l'âge et la zone de résidence. Tous les sujets ou leurs proches ont été interrogés sur leurs caractéristiques démographiques, leur statut tabagique, leur histoire résidentielle et professionnelle et leur consommation de liquides depuis l'âge de 18 ans. L'étude de Chevrier (Chevrier et al. 2004) portant sur l'exposition aux SPCs avait

finalement inclus 281 cas et 272 témoins, après restriction de l'échantillon aux individus pour lesquels l'histoire résidentielle et l'historique de traitement de l'eau distribuée, par le chlore et l'ozone, ont pu être reconstitués sur une période de 30 ans. Pour l'analyse poolée, nous avons extrait 567 cas et 66 témoins âgés de 30 à 80 ans, pour lesquels l'histoire résidentielle et l'historique de traitement de l'eau distribuée par le chlore étaient disponibles.

Estimation du niveau environnemental de THMs

Dans cette étude, les niveaux de THMs ont été estimés par un panel d'experts (méthode Delphi) qui ont évalué le risque de 38 réseaux d'eau distribuée représentatifs des stratégies de traitement utilisées en France au cours des décennies d'intérêt. Trois variables ont été identifiées comme cruciales pour la production de THMs : la source de l'eau (profonde ou de surface), la présence ou absence d'une pré-chloration, la présence d'une filtration avant chloration. Les experts ont attribué un niveau de risque à chaque réseau, basé sur la combinaison de ces 3 facteurs prédictifs. Pour convertir ces niveaux de risque en concentration en THMs, des modèles expérimentaux ont été élaborés par l'Ecole Nationale de Santé Publique (Le Couedic 1995). Ils ont permis de décrire les effets successifs du traitement au chlore de différents types d'eau quant à la production de sous-produits. Des niveaux de THMs variant de 0 µg/L à 78 µg/L ont pu être affectés aux 8 combinaisons de conditions de production d'eau chlorée (Tableau 10).

Tableau 10. Niveaux de THMs (µg/L) attribués en fonction des caractéristiques de l'eau brute et du traitement dans l'étude (Chevrier et al. 2004)

Source d'eau	Chloration		Niveau de THMs attribué (µg/L)
	Avant filtration	Après filtration	
Eau profonde	-	-	0
	-	X	5
	X	-	5
	X	X	10
Eau de surface	-	-	27,4
	-	X	31,8
	X	-	64,9
	X	X	78,3

Pour chaque réseau d'eau concerné par les participants de l'étude cas-témoins, l'historique de la ressource d'eau et des stratégies de traitement utilisés au cours des années de la fenêtre d'exposition a été reconstitué et les niveaux de THMs attribués en conséquence.

III.4.3 L'étude Espagnole (Villanueva et al. 2007a)

L'étude espagnole a inclus 1055 cas de cancer de la vessie et 1128 témoins entre 1998 et 2001, dans 18 hôpitaux situés dans des hôpitaux de 5 régions espagnoles (Barcelona, Vallès/Bages, Alicante, Tenerife, Asturias). Les cas sont des patients ayant un diagnostic histologiquement confirmé de cancer de la vessie, recrutés dans les services d'urologie (cancer primitif dont 91% sont des carcinomes transitionnels). Les témoins sont des patients admis dans les mêmes hôpitaux dont les diagnostics sont considérés sans lien avec les principaux facteurs de risque du cancer de la vessie, comme le tabagisme par exemple. Ils ont été appariés individuellement (1 cas pour 1 témoin) sur l'âge (tranches de 5 ans), le sexe et la zone géographique de résidence. Des entretiens individuels ont fourni des informations sur les caractéristiques sociales et démographiques, l'histoire résidentielle, le statut tabagique, la consommation de boissons (dont l'eau du robinet, l'eau en bouteille et le café), l'histoire professionnelle, la durée et fréquence moyennes des douches et bains et la fréquentation d'une piscine (fréquence et durée).

Estimation du niveau environnemental de THMs

Les sociétés et régies communales distribuant l'eau potable dans les 5 régions concernées par l'étude cas-témoins ont été contactées afin de collecter l'historique de la ressource en eau et des stratégies de désinfection utilisées depuis 1920 (année de mise en place de la chloration, proportions d'eau de surface et d'eau profonde utilisée, niveaux de THMs en sortie d'usine depuis la fin des années 1970, niveaux moyens de MON, doses de chlore utilisées ...) Des mesures de THMs ont aussi été effectuées en 1999 sur des échantillons d'eau du robinet provenant des régions de l'étude. Les niveaux historiques de THMs ont été supposés constants pour une ressource et un traitement donnés (les niveaux moyens observés dans les années les plus récentes ont été extrapolés jusqu'en 1920). Si la source d'eau changeait, la proportion d'eau de surface était utilisée pour pondérer ces niveaux moyens. Le niveau de THMs dans l'eau a été supposé nul avant l'introduction de la chloration (Villanueva et al. 2006).

III.5 Les caractéristiques des échantillons poolés

III.5.1 Caractéristiques générales

Les caractéristiques générales des cas et des témoins inclus sont présentées dans le Tableau 11. Globalement, 80,9% des individus sont des hommes. L'âge moyen au diagnostic est de 65,1 ans ([30-80], médiane=67 ans).

Tableau 11 . Caractéristiques des cas et des témoins (base de données poolée)

	Cas N (%)	Témoins N (%)
Etude		
France	567 (23,8)	666 (21,6)
Finlande	759 (31,9)	1292 (41,9)
Espagne	1055 (44,3)	1128 (36,6)
Sexe		
Hommes	2001 (84,0)	2420 (78,4)
Femmes	380 (16,0)	666 (21,6)
Age – moyenne (écart-type)	65,5 (9,8)	64,8 (9,8)
Niveau scolaire atteint		
<= école primaire	957 (40,2)	1123 (36,4)
Niveau secondaire entamé	605 (25,4)	760 (24,7)
Niveau secondaire validé	273 (11,5)	350 (11,4)
> études secondaires	239 (10,1)	341 (11,0)
Autre niveau	304 (12,8)	508 (16,5)

Il existe une hétérogénéité entre les trois populations des trois études (Tableau 12). L'échantillon finlandais se distingue par une surreprésentation des femmes (Khi2, $P < 0,0001$). Les âges moyens diffèrent statistiquement entre les trois sous-échantillons. La répartition des niveaux scolaires varie aussi significativement entre les trois études ($P < 0,0001$), le sous-échantillon espagnol se caractérisant par une part très importante d'individus n'ayant pas atteint le niveau des études primaires.

Tableau 12. Distribution comparative des caractéristiques des témoins issus des études Française, Finlandaise et Espagnole

	France		Finlande		Espagne	
	N	%	N	%	N	%
Sexe						
Hommes	576	86,5	866	67,0	978	86,7
Femmes	90	13,5	426	33,0	150	13,3
Age – moyenne (écart-type)	62,9 (9,8)		65,9 (9,7)		64,9 (9,6)	
Niveau scolaire atteint						
<= école primaire	57	8,5	152	11,8	914	81,3
Niveau secondaire entamé	368	55,3	346	26,8	46	4,1
Niveau secondaire validé	44	6,6	220	17,0	86	7,7
> études secondaires	76	11,4	197	15,2	68	6,0
Autre niveau	121	18,2	377	29,2	10	0,9

III.5.2 Les facteurs de risques associés au cancer de la vessie

Les facteurs de risques du cancer de la vessie connus et disponibles dans les trois études sont l'exposition professionnelle et le tabagisme. Le statut tabagique de l'individu a été défini au moment du diagnostic ou de l'inclusion. Il est réparti en trois catégories : « n'a jamais fumé », « a fumé et a arrêté depuis », « est encore fumeur actuellement ».

L'exposition professionnelle est codée selon une variable binaire (« a travaillé » ou « n'a jamais travaillé » dans une profession définie a priori à risque pour le cancer de la vessie). La liste des professions à risque a été établie à partir d'une revue de la littérature sur les cancers de la vessie d'origine professionnelle (Silverman et al. 1996) et a été utilisée dans une analyse poolée européenne précédente sur le cancer de la vessie (Kogevinas et al. 2003).

Les codes ILO ISCO 68 (ILO 1968) (Bureau International du Travail) des professions identifiées à risque pour le cancer de la vessie sont listés ci-dessous :

- ISCO 7-4 : conducteurs de fours et d'appareils chimiques
- ISCO 8-0 : bottiers, ouvriers de la chaussure et du cuir
- ISCO 8-41, 8-49 : ajusteurs-monteurs et installateurs de machines, mécaniciens de précision
- ISCO 8-32, 8-33, 8-34, 8-35 : outilleurs, modeleurs, traceurs ; régleurs-conducteurs de machines-outils ; conducteurs de machines-outils ; conducteurs d'appareils à surfacer, polir, affûter le métal
- ISCO 9-3 : peintres
- ISCO 9-0 : ouvriers de la fabrication d'articles en caoutchouc et en matières plastiques
- ISCO 7-5 : ouvriers du textile
- ISCO 9-85 : conducteurs de véhicules à moteur. Tous les autres codes 9-8 sont exclus
- ISCO 5-7 : spécialistes des soins de beauté et travailleurs assimilés

Tableau 13. Association entre les facteurs de risque connus et le risque de cancer de la vessie

	Cas N (% colonne)	Témoins N (% colonne)	OR* (IC à 95%)
Tabagisme			
N'a jamais fumé	452 (19,1)	1169 (38,3)	1
A fumé et arrêté	892 (37,8)	1073 (35,1)	2,32 (1,97-2,73)
Fumeur(se) actuel(le)	1018 (43,1)	814 (26,6)	3,90 (3,31-4,59)
Exposition professionnelle			
Jamais	1980 (83,2)	2684 (87,0)	1
Oui	401 (16,8)	402 (13,0)	1,21 (1,03-1,41)

* OR ajusté sur l'étude, l'âge et le sexe

L'exposition professionnelle au risque de cancer de la vessie concerne 13% des témoins et 16,8% des cas de l'échantillon total. 43,1% des cas sont des fumeurs actifs au moment du diagnostic, contre seulement 26,6% des témoins. Sur l'ensemble de l'échantillon, les facteurs de risque connus sont bien significativement associés au risque de cancer de la vessie, avec et sans ajustement sur l'étude, l'âge et le sexe.

Les trois études présentent une distribution des facteurs de risque différente (Tableau 14). L'exposition professionnelle est très peu représentée en Finlande (3,8% des personnes incluses).

Tableau 14. Distribution comparative des facteurs de risque de cancer de la vessie parmi les témoins issus des études Française, Finlandaise et Espagnole

	France		Finlande		Espagne	
	N	%	N	%	N	%
Tabagisme						
N'a jamais fumé	200	30,0	550	42,6	419	37,1
A fumé et arrêté	216	32,4	396	30,6	461	40,9
Fumeur(se) actuel(le)	221	33,2	346	26,8	247	21,9
Valeur manquante	29	4,4	0	0	1	0,1
Exposition professionnelle						
Jamais	492	73,9	1243	96,2	949	84,1
Oui	174	26,1	49,0	3,8	179	15,9

III.5.3 La consommation individuelle de boissons à base d'eau

La consommation individuelle de différents types de boissons est disponible dans les 3 études initiales: l'eau du robinet, le total des boissons (incluant l'eau du robinet et les autres boissons chaudes ou froides) et le café. Il s'agit d'une estimation de la quantité moyenne bue quotidiennement au cours des 40 années précédentes (Tableau 15).

La consommation moyenne d'eau du robinet est de 1 L/jour (écart-type=0,7), la médiane étant à 0,8 L/jour (1^{er} quartile=0,4 et 3^{ème} quartile=1,3). 5,5% des individus n'ont pas du tout bu d'eau du robinet durant la fenêtre d'exposition. Le seuil de 1 L/jour sera utilisé pour différencier les individus petits et gros consommateurs d'eau du robinet.

La consommation totale de liquides moyenne est de 2,1 L/jour (écart-type=0,9), la médiane étant de 1,9 (1^{er} quartile=1,5, 3^{ème} quartile=2,5). Tous les individus ont une consommation totale de liquides non-nulle, certains ont cependant des niveaux très faibles (0,1 ou 0,2 L/jour). Le seuil de 2 L/jour sera utilisé pour dichotomiser cette variable dans les modèles.

Tableau 15. Consommation de boissons à base d'eau parmi les cas et les témoins

	Cas N (% colonne)	Témoins N (% colonne)	OR* (IC à 95%)
Consommation d'eau du robinet			
<=1 (L/jour)	1110 (54,0)	1430 (54,4)	1
>1	945 (46,0)	1199 (45,6)	0,88 (0,78-0,99)
Consommation totale de boissons			
<=2 (L/jour)	1232 (59,8)	1631 (61,8)	1
>2	827 (40,2)	1008 (38,2)	0,99 (0,87-1,12)
Consommation de café			
<= 3 (tasses/jour)	452 (19,1)	1169 (38,3)	1
> 3	892 (37,8)	1073 (35,1)	0,86 (0,72-1,02)

* OR ajustés sur l'étude, l'âge et le sexe.

Le nombre moyen de tasses de café consommées par jour est de 2,0 (écart-type=1,7). La médiane est de 2 tasses par jour. 6,1 % des individus n'ont pas consommé de café du tout au cours de la fenêtre d'exposition. Nous avons défini un individu comme gros consommateur de café s'il en consommait en moyenne plus de 3 tasses par jour.

L'association entre la consommation d'eau du robinet et le risque de cancer de la vessie est à la limite de la significativité statistique : le fait de consommer plus d'1L d'eau du robinet par jour apparaît comme un effet réduisant le risque de cancer de la vessie.

Des disparités inter-études existent dans les consommations d'eau et de fluides.

Tableau 16. Distribution comparée de la consommation de liquides parmi les témoins issus des études Française, Finlandaise et Espagnole

	France		Finlande		Espagne	
	N	%	N	%	N	%
Consommation d'eau du robinet						
<=1 (L/jour)	490	73,6	850	65,8	291	25,8
>1	163	24,5	429	33,2	416	36,9
Donnée manquante	13	1,9	13	1,0	421	37,3
Consommation totale de liquides						
<=2 (L/jour)	435	65,3	572	44,3	423	37,5
>2	211	31,7	706	54,6	282	25,0
Donnée manquante	20	3,0	14	1,1	423	37,5
Consommation de café						
<= 3 (tasses/jour)	631	94,7	1082	83,7	812	72,0
> 3	34	5,1	187	14,5	125	11,1
Donnée manquante	1	0,2	23	1,8	191	16,9

Les habitudes de consommation d'eau du robinet sont contrastées d'une étude à l'autre (Khi2, $P < 0,0001$), puisque 58,8% des individus espagnols consomment plus d'un litre d'eau du robinet par jour en moyenne, contre seulement 25% des individus français. Il est à noter que l'information sur les habitudes de consommation d'eau du robinet n'est pas disponible pour 37,3% de l'échantillon espagnol. Sur le total des liquides ingérés en moyenne par jour, les individus de l'étude finlandaise sont les plus gros consommateurs.

III.6 Mesures de l'exposition aux THMs

III.6.1 Définition d'une fenêtre d'exposition commune

Dans la précédente analyse poolée réalisée par (Villanueva et al. 2004), une première harmonisation entre les études des fenêtres d'exposition avait été opérée, fixant sa durée à 40

années, en excluant les 5 dernières années précédant le diagnostic (pour les cas) ou l'interview (pour les témoins), considérées comme non-pertinentes pour l'induction du cancer de la vessie.



Dans l'étude espagnole (Villanueva et al. 2007a), une définition différente de la fenêtre d'exposition avait été choisie puisqu'elle considérait les expositions au cours de la vie depuis l'âge de 15 ans jusqu'au diagnostic du cancer de la vessie. La longueur de la fenêtre était donc variable selon l'âge auquel les individus avaient été diagnostiqués. Nous avons donc ré-estimé les indicateurs d'exposition sur une fenêtre de 40 ans, en excluant les 5 ans précédant le diagnostic. En adoptant la définition commune aux autres études, la longueur de la fenêtre d'exposition a été réduite de 10 ans en moyenne, de 12 ans en médiane dans l'étude espagnole.

Tableau 17. Longueur (en années) de la fenêtre d'exposition dans l'étude espagnole, selon sa définition

Définition	Moyenne	Médiane	Minimum	Maximum
De l'âge de 15 ans au diagnostic ou inclusion	49,9 (9,7)	52	16	65
De 45 ans à 5 ans avant le diagnostic ou l'inclusion	39,8 (1,2)	40	26	40

III.6.2 Les indicateurs d'exposition environnementale

La durée de l'exposition à une eau de surface chlorée (exprimée en nombre d'années au cours de la fenêtre d'exposition) est le premier indicateur d'exposition au niveau environnemental. Les eaux de surface chlorées sont celles qui sont le plus susceptibles de contenir des SPCs, ainsi que nous l'avons vu dans le Chapitre I, partie II.3. décrivant les déterminants de la présence de SPCs.

Le second indicateur d'exposition environnementale considéré est le niveau moyen de TTHM estimé dans les réseaux d'eau alimentant les domiciles successifs des individus au cours de la fenêtre d'exposition. Il est égal à la somme des concentrations annuelles estimées à chaque résidence divisée par le nombre d'années de la fenêtre d'exposition pour lesquelles cette information est connue. Selon les individus (et leur lieux de résidence successifs), les niveaux annuels moyens de TTHM ne sont pas connus pour toutes les années de la fenêtre d'exposition.

Le taux moyen calculé peut donc être estimé sur un nombre d'années différent selon les individus.

Restriction de l'échantillon

Afin d'assurer la fiabilité de la mesure d'exposition moyenne, on ne retiendra dans les analyses que les individus pour lesquels l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

Tableau 18. Individus pour lesquels l'exposition environnementale aux THMs est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition de 40 ans

Etude	N	Cas	Témoins
France	611 (49,6 %)	276 (46,7%)	335 (50,3%)
Finlande	1681 (82,0 %)	613 (80,8%)	1068 (82,7%)
Espagne	1461 (66,9 %)	701 (66,5%)	760 (67,4%)
Total	3753 (68,7 %)	1590 (66,7%)	2163 (70,1%)

Globalement, seuls 68,7% des individus seront conservés pour construire les modèles mettant en relation l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie. La restriction des échantillons touche de manière différente les études : la moitié seulement de l'échantillon français sera utilisé, alors que c'est le cas de 82% de l'échantillon finlandais. Mais cette restriction touche les cas et les témoins de chaque étude de manière identique.

La répartition des individus selon l'étude initiale est donc modifiée : 16% de l'échantillon poolé est issu de l'étude française, 45% de l'étude finlandaise et 39% de l'étude espagnole (contre respectivement 22,6%, 37,5% et 39,9% dans l'étude initiale).

III.6.3 Les indicateurs d'exposition intégrant les usages de l'eau

Les indicateurs d'exposition individuelle aux THMs sont dérivés du niveau environnemental de TTHM et des usages de l'eau déclarés par les individus dans les questionnaires en tenant compte des 3 voies d'exposition possibles (ingestion, bains et douches, piscine).

- ***L'ingestion quotidienne moyenne de TTHM (en µg/jour):***

Concentration annuelle moyenne en TTHM de l'eau du robinet (en µg/L)

x consommation quotidienne moyenne (en L/jour)

- ***L'ingestion cumulée de TTHM*** au cours de la fenêtre d'exposition (en mg):

$$\begin{aligned} & \text{Somme des concentrations annuelles moyennes en TTHM } (\mu\text{g/L}) \\ & \times \text{ consommation quotidienne moyenne d'eau du robinet (L/jour) } \times 365 / 1000 \end{aligned}$$

- ***L'exposition quotidienne moyenne via les bains et les douches*** (en min/jour \times $\mu\text{g/L}$) :

$$\begin{aligned} & \text{Durée moyenne des douches et des bains (min/jour)} \\ & \times \text{ niveau résidentiel moyen de TTHM } (\mu\text{g/L}) \end{aligned}$$

- ***La fréquentation de piscines*** au cours de la vie :

Variable binaire (a fréquenté/n'a jamais fréquenté) et le nombre d'heures cumulé

IV. Méthodes

IV.1 Les méthodes statistiques d'analyse de données issues de plusieurs études

Deux grandes stratégies d'analyse statistique sont possibles pour estimer l'effet global d'une exposition sur un risque de maladie à partir des données issues de plusieurs études indépendantes:

- ***La méta-analyse*** consiste à utiliser les estimations publiées dans les différentes études initiales indépendantes et à les combiner mathématiquement afin d'obtenir un indicateur résumé.
- ***L'analyse « poolée » ou analyse « jointe »*** consiste à utiliser les données brutes de chaque étude et à les rassembler en un jeu de données unique sur lequel une analyse globale est menée.

IV.1.1 La méta-analyse

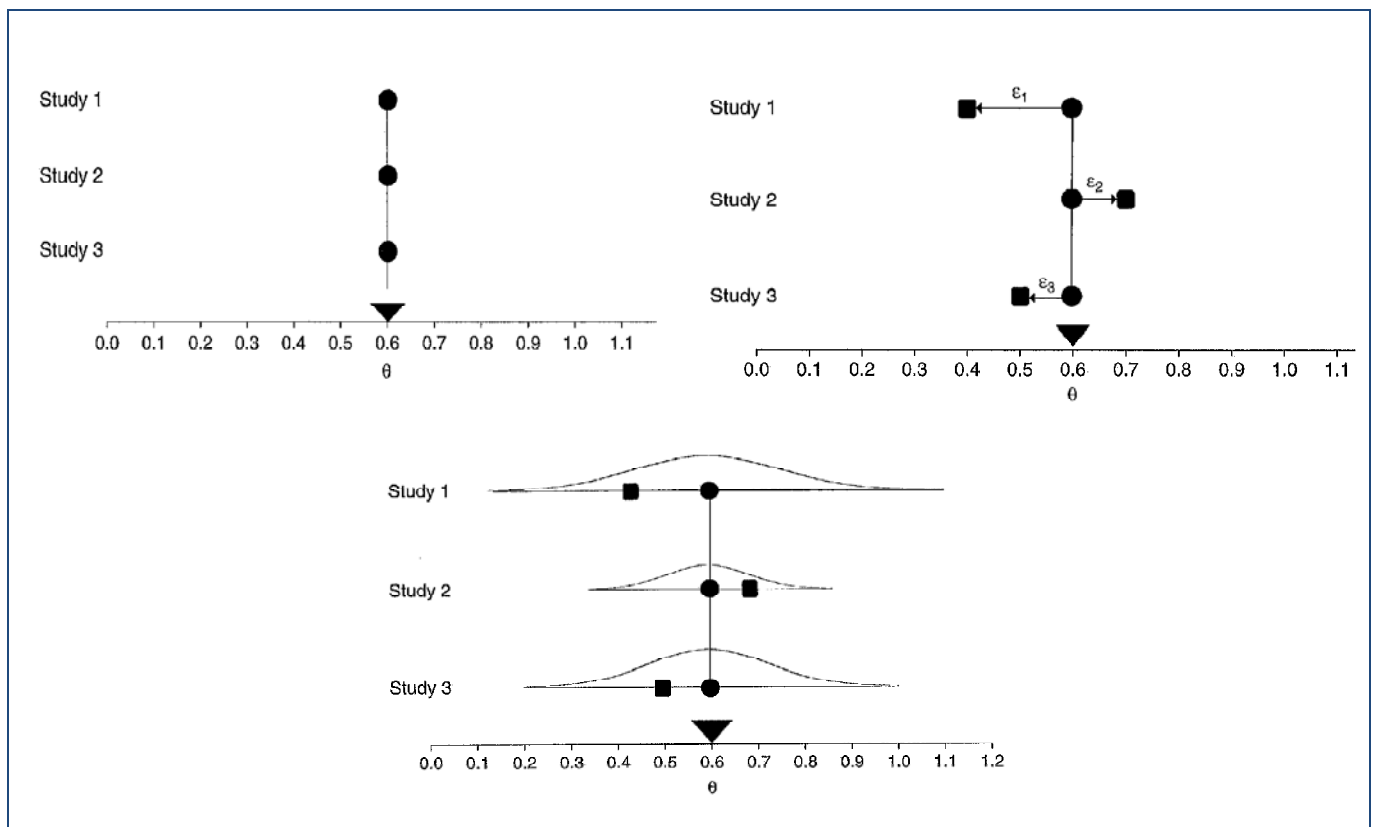
De façon générale, la méta-analyse consiste à calculer une moyenne pondérée des estimations publiées dans la littérature, la pondération étant inversement proportionnelle à la variance de chaque estimation (elle-même inversement proportionnelle à l'effectif). La façon dont cette variance est calculée dépend d'une hypothèse forte quant à l'hétérogénéité inter-étude de l'effet auquel on s'intéresse, ainsi que nous allons le préciser ci-après.

Les données extraites de la littérature sont des résultats d'estimation à partir de données d'échantillons, résultant souvent de modélisation, de type régression logistique, par exemple. Dans notre cas, ce sont des odds-ratios. Ceux-ci ont été estimés par différents modèles incluant des cofacteurs différents, spécifiques à chaque étude.

- **La situation d'homogénéité**

L'hypothèse sous-jacente est que l'effet vrai auquel on s'intéresse est unique, identique pour les populations et les études que l'on analyse simultanément. Les différences entre les estimations observées dans les différentes études ne sont alors liées qu'à un phénomène d'échantillonnage. Cette situation peut-être représentée graphiquement ainsi (Figure 7)

Figure 7. Méta-analyse sous l'hypothèse d'homogénéité



Source : (Borenstein et al. 2009)

Le paramètre vrai à estimer (θ), représenté par un rond, est le même pour les 3 études (dans cet exemple égal à 0,6). Les paramètres observés (estimés) θ_k , représentés par des carrés, diffèrent d'une distance de ε_k du paramètre vrai θ , uniquement du fait d'échantillons différents.

Mathématiquement, le modèle sous-jacent s'écrit :

$$\theta_k = \theta + \varepsilon_k, \quad \text{avec } \varepsilon_k \rightarrow N(0, \sigma_k^2)$$

où : θ est l'effet global, ε_k est l'erreur aléatoire de mesure de θ dans l'échantillon k et σ_k^2 la variance de cette erreur de mesure

L'effet global unique θ peut alors être estimé soit par la méthode de DerSimonian and Laird (DerSimonian and Laird 1986), soit par maximum de vraisemblance dans le cadre d'un modèle linéaire à effet fixe.

L'estimateur de DerSimonian and Laird est le suivant :

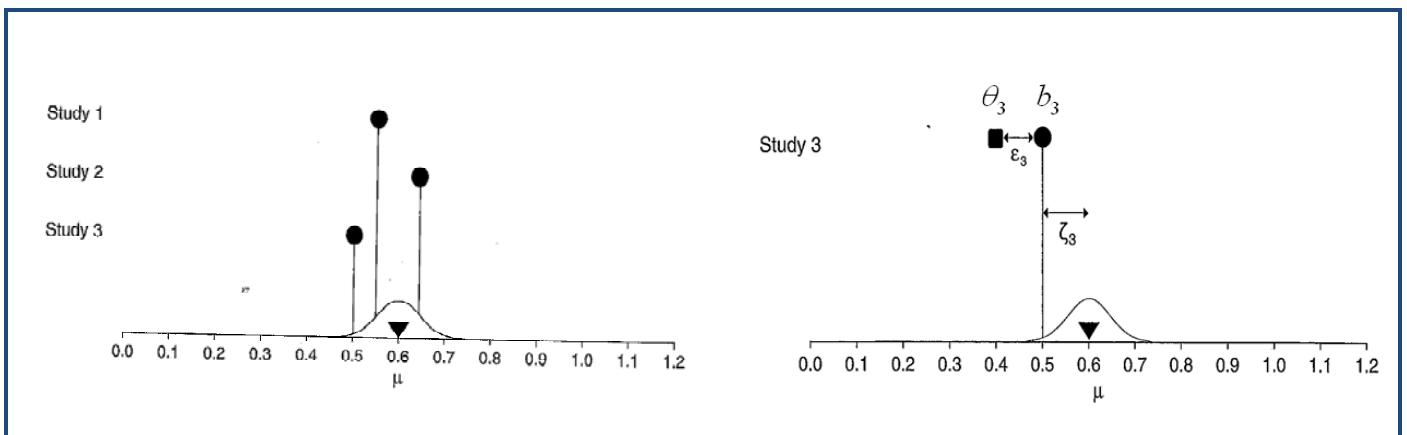
$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{k=1}^K w_k \theta_k}{\sum_{k=1}^K w_k}, \quad \text{où } w_k = \frac{1}{\sigma_k^2} \quad \text{et} \quad \widehat{V(\hat{\theta})} = \frac{1}{\sum_{k=1}^K \frac{1}{\sigma_k^2}}$$

- **La situation d'hétérogénéité**

L'hypothèse sous-jacente est maintenant que l'effet vrai que l'on souhaite estimer n'est pas le même dans les populations dans lesquelles les études ont été réalisées, du fait d'un certain nombre de caractéristiques de ces populations quant à l'exposition elle-même ou quant à des facteurs de confusion potentiels.

Graphiquement, la situation peut-être ainsi représentée par la Figure 8.

Figure 8. Méta-analyse sous l'hypothèse d'hétérogénéité



Source : (Borenstein et al. 2009)

Les paramètres vrais à estimer (ronds), ne sont pas identiques dans les 3 études. La moyenne de ces paramètres vrais est égale à μ . L'effet vrai de l'étude 3 (b_3) diffère de la moyenne de la distribution des effets vrais (μ) par la grandeur ζ_3 . L'effet observé θ_3 diffère de b_3 par la grandeur ε_3 (du fait de l'échantillonnage).

Sous l'hypothèse d'hétérogénéité, on observe donc 2 sources de variation par rapport à la valeur moyenne des effets vrais μ : une variabilité inter-étude et une variabilité intra-étude.

Mathématiquement, le modèle s'écrit :

$$\theta_k = \mu + b_k + \varepsilon_k, \quad \text{avec } \varepsilon_k \rightarrow N(0, \sigma_k^2) \quad \text{et} \quad b_k \rightarrow N(0, \tau^2)$$

$$\text{donc } \theta_k \rightarrow N(\mu, \sigma_k^2 + \tau^2)$$

où : μ est la moyenne des effets vrais, b_k est l'effet vrai spécifique à l'étude k, ε_k est l'erreur aléatoire de mesure de θ_k dans l'échantillon k et τ^2 la variance inter-étude entre les effets b_k .

L'estimation de σ_k^2 est produite dans chaque étude, l'estimation de τ^2 peut se faire soit par la méthode des moments (DerSimonian and Laird 1986), soit par la méthode du maximum de vraisemblance ou maximum de vraisemblance restreint (Sheu and Suzuki 2001), dans le cadre d'un modèle à effets aléatoires.

La statistique de Cochran (Cochran 1954) permet de quantifier l'hétérogénéité des effets estimés :

$$Q = \sum_{k=1}^K \frac{(\hat{\theta} - \hat{\theta}_k)^2}{\sigma_k^2}.$$

La distribution de Q converge vers une loi du Khi2 à (K-1) degrés de liberté. Elle peut être utilisée pour tester l'hypothèse d'hétérogénéité entre les effets à estimer, mais le test associé se révèle très peu puissant pour détecter l'hétérogénéité.

L'estimation par la méthode des moments de la variabilité inter-étude τ^2 utilise cette statistique.

$$\widehat{\tau^2} = \text{Max} \left[0 ; \frac{Q - (k - 1)}{\left(\sum_{k=1}^K w_k - \frac{\sum_{k=1}^K w_k^2}{\sum_{k=1}^K w_k} \right)} \right], \quad \text{avec } w_k = \frac{1}{\sigma_k^2}$$

L'estimation de l'effet global est donc la suivante :

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{k=1}^K w_k^* \theta_k}{\sum_{k=1}^K w_k^*}, \quad \text{avec} \quad w_k^* = \frac{1}{\sigma_k^2 + \tau^2} \quad \widehat{V(\hat{\theta})} = \frac{1}{\sum_{k=1}^K \frac{1}{\sigma_k^2 + \tau^2}}$$

Malgré l'existence du test de Cochran permettant de tester la présence d'hétérogénéité de l'effet d'intérêt entre les études, le choix entre la méta-analyse à effets fixes (hypothèse d'homogénéité) ou aléatoires (hypothèse d'hétérogénéité) ne doit pas uniquement s'appuyer sur ce test, du fait de sa faible puissance ou sur une position de principe. Il est donc recommandé (Borenstein et al. 2010) de procéder à une analyse à effets aléatoires dans laquelle on laisse la possibilité d'une hétérogénéité, qui est donc estimée. Si celle-ci est estimée nulle, le modèle correspond à celui à effets fixes.

IV.1.2 La méta-régression

La méta-régression (Greenland 1987), (van Houwelingen et al. 2002) permet d'explorer l'hétérogénéité présente dans une méta-analyse, en modélisant l'effet d'une covariable potentiellement explicative des différences observées entre les études. Cette covariable peut-être une caractéristique technique de l'étude (étude cas-témoins vs cohorte, par exemple) ou de la population représentée par chaque étude (zone géographique, période de réalisation de l'étude) ou de la variable de santé d'intérêt (cas déclarés avant 40 ans ou après 40 ans, par exemple). Le modèle de méta-analyse à effets aléatoires est alors enrichi d'un effet fixe représentant cette variable et devient le modèle mixte suivant :

$$\theta_k = \mu + b_k + \beta_1 X_{1k} + \varepsilon_k$$

où $b_k \rightarrow N(0, \tau^2)$ et $\varepsilon_k \rightarrow N(0, \sigma_k^2)$

et X_{1k} est une variable indicatrice ou continue, représentant une caractéristique de l'étude k, μ est la moyenne des effets vrais, b_k est l'effet vrai spécifique à l'étude k, ε_k est l'erreur aléatoire de mesure de θ_k dans l'échantillon k et τ^2 la variance inter-étude entre les effets b_k . (Villanueva et al. 2007a)

Le paramètre β_1 est estimé. Si son estimation est significativement différente de 0, on peut en conclure que cette caractéristique explique une partie (sinon toute) de l'hétérogénéité observée.

IV.1.3 L'analyse « poolée »

Dans une analyse poolée, l'accès aux données des études initiales est indispensable. Ces données sont combinées pour former un échantillon global sur lequel un modèle unique est construit. Par exemple, un modèle logistique :

$$\text{logit}(p) = \alpha + X\beta + Z\gamma,$$

où X est la variable d'exposition, Z une covariable d'ajustement, p la probabilité d'occurrence d'un événement de santé.

Dans ce modèle, il est nécessaire que la variable d'exposition X soit définie de manière identique dans toutes les études initiales. De même, la variable de confusion Z doit être disponible pour toutes les études et définie de manière homogène. Il n'est donc possible d'inclure que les variables d'ajustement communes aux différentes études. Il est éventuellement possible d'introduire une interaction entre l'étude et le facteur de confusion, en ajoutant un terme d'interaction. De même, il est recommandé de stratifier le modèle par étude, à l'aide du terme α_k qui permet de tenir compte de différences de prévalence ou de ratio cas/témoins dans les différentes études.

$$\text{logit}(p) = \alpha_k + X\beta + Z\gamma_k$$

C'est ce que nous ferons dans le modèle d'analyse globale du risque de cancer de la vessie.

IV.1.4 Les avantages et inconvénients de ces 2 stratégies d'analyse

La méta-analyse est la moins coûteuse en termes de temps de réalisation, puisqu'elle repose uniquement sur la collecte des estimations de l'effet d'intérêt publiées dans la littérature. Mais de ce fait, elle est dépendante des choix d'analyse faits par l'équipe qui a réalisé chaque étude, notamment des covariables d'ajustement et des bornes des catégories d'exposition lorsque celle-ci est mise en classes. L'avantage est qu'elle permet de combiner un nombre très important d'études afin de produire un indicateur résumé.

D'un point de vue pratique, l'analyse poolée rencontre une difficulté importante qui est l'accès aux données des études initiales. Ceci nécessite une collaboration étroite avec les auteurs des différentes études et une confiance réciproque. D'un point de vue statistique, l'inconvénient majeur de ce type d'analyse vient du fait qu'on ne peut utiliser que les cofacteurs communs à toutes les études pour le modèle commun, ce qui oblige à laisser de côté des cofacteurs qui peuvent être importants dans telle ou telle étude particulière, du fait du design de l'étude ou de la

population représentée dans l'étude. On est donc amenés à estimer le modèle en laissant de côté des facteurs de confusion importants, ce qui peut induire un biais dans les résultats. Il faut aussi que les définitions de toutes les variables intervenant dans le modèle commun soient les mêmes. Ce modèle peut donc produire des mesures biaisées de l'effet pour 2 raisons : en ignorant des effets aléatoires et en ignorant des facteurs de confusion importants.

IV.1.5 Une approche alternative en deux étapes pour analyser des données « poolées »

Une approche en deux étapes combinant les deux approches précédemment exposées a été proposée par (Stukel et al. 2001).

La première étape consiste à ré-analyser les données de chaque étude séparément : un modèle logistique décrivant la relation entre une exposition X sur la maladie, en contrôlant l'effet d'un facteur de confusion (supposé unique, dans un premier temps) Z_k spécifique à l'étude k ($k=1$ à K). La variable d'exposition X est définie de manière homogène dans les K études (unité, bornes, si elle est utilisée en classes). Les variables d'ajustement utilisées sont par contre spécifiques à chaque étude. Il est donc possible à cette étape de tenir compte de la spécificité du design de chaque étude et d'utiliser les cofacteurs les plus pertinents et indispensables à une estimation non-biaisée de l'effet de l'exposition. Pour chaque étude, le modèle s'écrit :

$$\text{logit}(p) = \alpha_k + X\beta_k + Z_k\gamma_k$$

où k est l'indicateur de l'étude, β_k est le logarithme de l'OR associé à l'exposition, γ_k est le logarithme de l'OR associé au facteur de confusion Z_k de l'étude k . La variance estimée associée à β_k est notée σ_k^2 .

La seconde étape consiste à combiner par une méta-analyse avec effets aléatoires les K résultats produits lors de l'étape 1, en posant le modèle suivant :

$$\beta_k = \beta + b_k + \varepsilon_k$$

où $b_k \rightarrow N(0, \tau^2)$ et $\varepsilon_k \rightarrow N(0, \sigma_k^2)$

β est le log-OR global de l'exposition, b_k représente la variation de l'étude k par rapport à l'effet global, sa variance τ^2 exprimant donc l'hétérogénéité inter-étude de l'effet.

Dans cette équation, les b_k et σ_k^2 sont considérés comme des constantes. La variance des β_k est égale à la somme des variances intra- et inter-études : $V(\beta_k) = \sigma_k^2 + \tau^2$

L'estimation de l'effet global β est la moyenne des β_k , pondérés par l'inverse de leur variance estimée :

$$\hat{\beta} = \frac{\sum_{k=1}^K w_k \hat{\beta}_k}{\sum_{k=1}^K w_k}, \quad \text{avec } w_k = \frac{1}{\sigma_k^2 + \tau^2}$$

L'approche en deux étapes permet une flexibilité par rapport aux designs différentiels, aux facteurs de confusion, et aux données collectées dans les études dont on souhaite combiner les résultats. L'étude de (Stukel et al. 2001) a montré que cette méthode était largement préférable à la simple analyse poolée des données initiales : lorsque les tailles des études individuelles sont importantes, la méthode en deux étapes se révèle plus pertinente lorsqu'il existe de la variabilité inter-étude et permet d'obtenir des estimations non biaisées de l'effet et de sa variance (les facteurs de confusion sont pris en compte dans chaque étude individuelle et l'effet aléatoire permet de tenir compte de l'hétérogénéité inter-étude).

Un des inconvénients de cette approche en deux étapes est la ré-analyse nécessaire des données initiales, qui a été possible dans le cadre du projet HiWate.

Dans ce projet, nous avons combiné les deux approches : une analyse poolée pour les modèles s'intéressant aux effets des différents indicateurs d'exposition (environnementaux et individuels) et une méta-analyse (méthode de Stukel) pour le modèle s'intéressant aux effets de l'exposition environnementale seulement. Pour cette dernière, nous l'avons complétée par une analyse de méta-régression permettant de répondre à l'objectif de l'étude HiWate qui était de tester l'existence d'une spécificité européenne de l'association entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie. Après avoir réalisé l'étude européenne, nous avons donc cherché à comparer ces résultats à ceux trouvés à partir d'études nord-américaines présentes dans la première analyse poolée de (Villanueva et al. 2004). Nous avons donc finalement rassemblé les résultats des trois études européennes et des trois études américaines dans une méta-analyse et utilisé une méta-régression dans laquelle l'effet fixe explicatif proposé était le continent (Amérique du Nord versus Europe). La significativité statistique de cette variable nous a permis de tester l'existence d'un effet « continent », c'est-à-dire d'une spécificité européenne.

IV.2 La modélisation statistique du risque associé à l'exposition

- **Le modèle**

L'événement de santé qui nous intéresse étant le cancer de la vessie et le design des études des études cas-témoins, nous utiliserons des modèles logistiques inconditionnels, à la fois pour le modèle global de l'analyse jointe et pour les modèles spécifiques à chaque étude. Les individus de différents groupes d'exposition seront comparés à l'aide d'Odds-Ratios (OR), directement estimés par le modèle logistique. L'exposition sera utilisée en tant que variable continue et en classes. Un modèle additif généralisé (GAM) intégrant une fonction spline naturelle de degré 3 de l'exposition sera utilisé pour estimer la forme globale de la relation entre exposition et risque de cancer. Cette modélisation permet d'identifier une éventuelle relation non-linéaire entre l'exposition et le risque et de repérer d'éventuels seuils d'effet. Le choix des covariables se fera sur le critère de leur disponibilité et de leur significativité statistique dans les études d'origine. Pour l'analyse poolée, les facteurs d'ajustement communs retenus sont : l'étude d'origine, le sexe, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). La consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L/jour) sera ou non incluse selon la variable d'exposition considérée (la quantité de THMs ingérée est très liée à la quantité totale de liquide par exemple). La sensibilité des résultats d'association à la présence de cette variable sera aussi testée. L'ajustement sur la consommation de café se justifie par une littérature variant sur les conclusions quant à l'association entre consommation de café et risque de cancer de la vessie : une revue de littérature postérieure à notre analyse (Zhou et al. 2012b) conclut à une relation dose-réponse possible sur la base des études cas-témoins résumées, mais ne montre pas de relation dose-réponse sur la base des études de cohorte.

- **Données manquantes**

Les principaux cofacteurs utilisés dans les modèles logistiques (statut tabagique, niveau d'éducation, quantité de liquides ingérés ...) comportaient des données manquantes. La restriction des analyses aux seuls individus avec une information complète (« cas complets ») aurait entraîné une réduction importante de l'effectif considéré (N=1041, soit 19% de l'échantillon). Les individus ayant au moins une des covariables d'ajustement manquante ont un niveau d'exposition environnementale aux THMs supérieur en moyenne à celui des individus avec une information complète (31,9 $\mu\text{g/L}$ versus 24,7 $\mu\text{g/L}$, t-test : $P < 0,0001$) et le ratio

cas/témoins diffère dans les deux groupes : 0,65 chez les individus avec données manquantes versus 0,75 chez les individus avec données complètes (test du Khi2 : $P=0,09$). Une analyse de sensibilité a permis de comparer les associations estimées sur les cas complets ou sur l'ensemble des individus, après avoir codé les valeurs manquantes des cofacteurs comme une catégorie à part entière. La sensibilité des résultats étant apparue importante pour certaines mesures d'exposition, nous avons choisi de garder l'ensemble des individus, en utilisant la modalité « donnée manquante » pour les covariables.

V. Résultats

Dans cette partie, nous présenterons les résultats d'association entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie issus de l'analyse poolée, puis de la méta-analyse.

Pour l'analyse poolée, nous commencerons par présenter les distributions de différents indicateurs d'exposition utilisés (niveau environnemental, durée d'exposition à une eau chlorée, quantité de TTHM ingérée), puis dans un second temps les associations de ces indicateurs avec le risque de cancer de la vessie.

La méta-analyse se limitera à l'étude de l'exposition environnementale aux THMs. Nous commencerons par estimer l'association entre cette exposition environnementale et le risque de cancer de la vessie au sein de chaque étude, puis nous présenterons les résultats de leur méta-analyse, ainsi que de la méta-régression qui la complète.

V.1 Résultats issus de l'analyse poolée

V.1.1 *Distribution des indicateurs d'exposition*

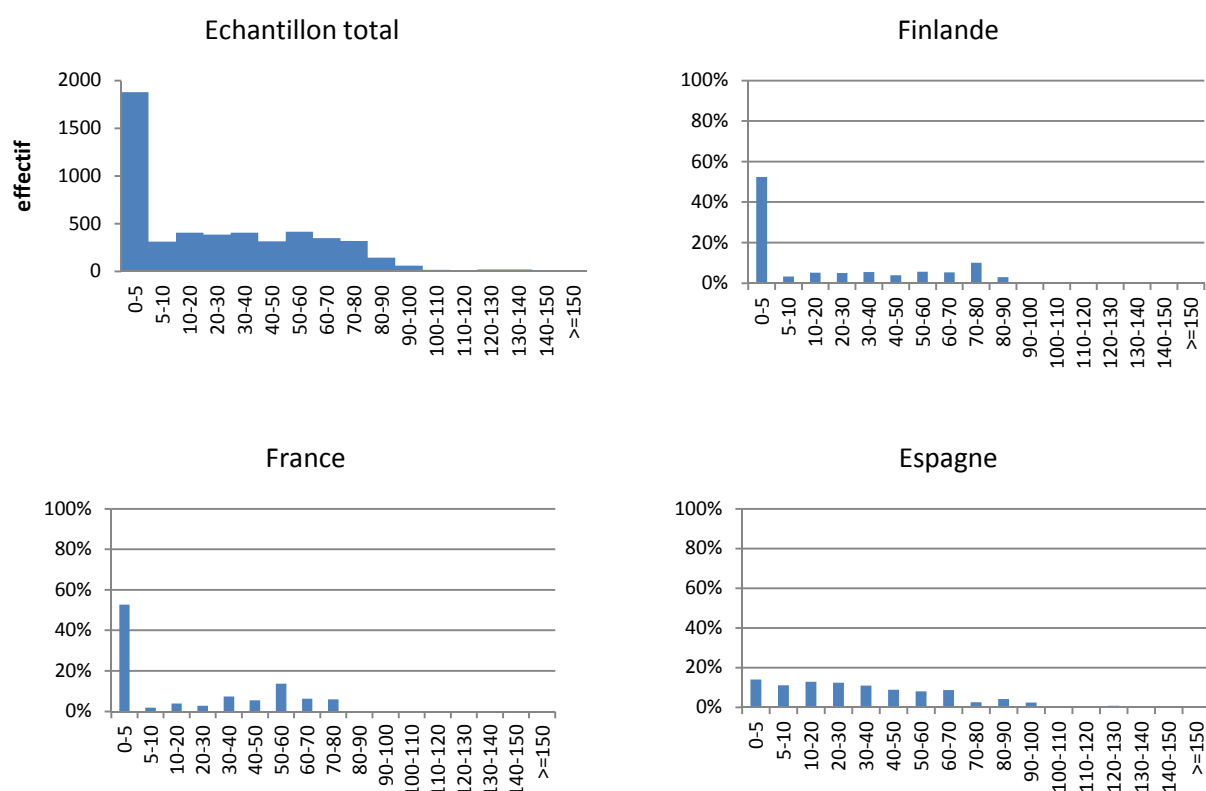
- **Le niveau environnemental de TTHM moyen**

La distribution globale du niveau de TTHM environnemental dans les 3 études montre un nombre très important de faibles valeurs (0-5 $\mu\text{g/L}$). Un quart des individus (25,7%) ont une exposition environnementale aux THMs nulle, 2% des individus seulement ont une exposition supérieure à 100 $\mu\text{g/L}$. Une grande hétérogénéité des distributions existe entre les études (Figure 9, Tableau 19)

Tableau 19. Distributions comparées des taux de TTHM environnementaux moyens (µg/L) dans les études française, finlandaise et espagnole*

Etude	Q1	Médiane	Q3	Moyenne	Std	N	Min	Max
France	1,5	5	41	17,7	21,5	611	0	78,3
Finlande	0	0	45,1	22,3	29,9	1681	0	130
Espagne	8,3	29,4	49,6	33,6	29,2	1461	0	145
Total	0	13,1	48,4	25,9	29,1	3753	0	145

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

Figure 9. Distribution des niveaux moyens de TTHM environnementaux (µg/L) dans l'échantillon poolé et dans les trois études (française, finlandaise et espagnole)

La médiane du niveau environnemental de TTHM est très faible dans les études française et finlandaise (respectivement à 5 et 0 µg/L), alors que celle de l'étude espagnole se situe à 29,4 µg/L. Cependant, on remarque que les 3^{ème} quartiles de la distribution dans les 3 études sont assez proches (situés entre 40 et 50 µg/L). Les formes des distributions entre les 3 études diffèrent donc essentiellement en ce qui concerne les niveaux faibles à moyens de concentrations en TTHM (Figure 9).

Nous avons catégorisé cette variable d'exposition environnementale. Afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux de la précédente analyse poolée, les seuils des catégories

d'exposition ([0-1],]1-5],]5-25],]25-50], >50 µg/L) ont été conservés. Ils ne correspondent donc pas aux quantiles de la distribution des niveaux de TTHM dans le nouvel échantillon, mais le déséquilibre des effectifs des catégories sur l'ensemble de l'échantillon nous a semblé acceptable. La situation contrastée en termes de profil d'exposition des individus entre les trois études y apparaît à nouveau (Tableau 20).

Tableau 20. Distribution comparée des catégories d'exposition environnementale aux THMs (µg/L) * (% colonnes)

Concentration en TTHM (µg/L)	France N=611 %		Finlande N=1681 %		Espagne N=1461 %		Ensemble %	
[0-1]	127	20,8	852	50,7	4	0,3	983	26,2
>1	484	79,2	829	49,3	1457	99,7	2770	73,8
[0-1]	127	20,8	852	50,7	4	0,3	983	26,2
]1-5]	254	41,6	72	4,3	235	16,1	561	14,9
]5-25]	33	5,4	185	11,0	396	27,1	614	16,4
]25-50]	75	12,3	178	10,6	469	32,1	722	19,2
>50	122	20,0	394	23,4	357	24,4	873	23,3

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

Les individus de l'étude espagnole sont très peu nombreux dans la catégorie des non-exposés (1^{ère} catégorie), alors que 32,1% de ses individus se trouvent dans la 2^{ème} plus haute catégorie d'exposition. L'échantillon finlandais présente 50,7% de ses individus classés comme non-exposés, mais aussi 23,4% d'individus dans la plus haute catégorie d'exposition, ce qui est comparable aux deux autres études. L'étude française présente un très petit nombre d'individus classés avec une exposition de 5 à 50 µg/L. Une analyse plus précise de la distribution des valeurs montre la sur-représentation de certaines valeurs particulières du fait de l'attribution de valeurs discrètes pour les niveaux de TTHM produits par différents types d'usine de traitement. On observe donc un effet de bord aux seuils des catégories d'exposition utilisés pour les individus de l'étude française.

Le Tableau 21 présente une comparaison des niveaux de TTHM environnementaux chez les cas et les témoins. Les niveaux moyens et médians sont significativement plus élevés chez les cas (test de Wilcoxon unilatéral : $P=0,0002$; test de la médiane unilatéral : $P=0,0011$). Le pourcentage d'individus non-exposés est significativement inférieur chez les cas (test du Khi2, $P<0,0001$), que le seuil d'exposition soit fixé à 0 µg/L ou 1 µg/L. Lorsqu'on limite la comparaison aux individus exposés aux THMs (niveau moyen de TTHM >1 µg/L), la différence

de niveau n'est plus significative entre les cas et les témoins (Wilcoxon unilatéral : $P=0,47$; test de la médiane : $P=0,33$), ainsi que le montre le Tableau 21. Il semble donc que la différence entre cas et témoins provienne essentiellement du fait d'avoir été ou non exposé aux THMs via le réseau d'eau potable et non du niveau lui-même.

Tableau 21. Distribution des niveaux de TTHM environnementaux ($\mu\text{g/L}$) chez les cas et les témoins*

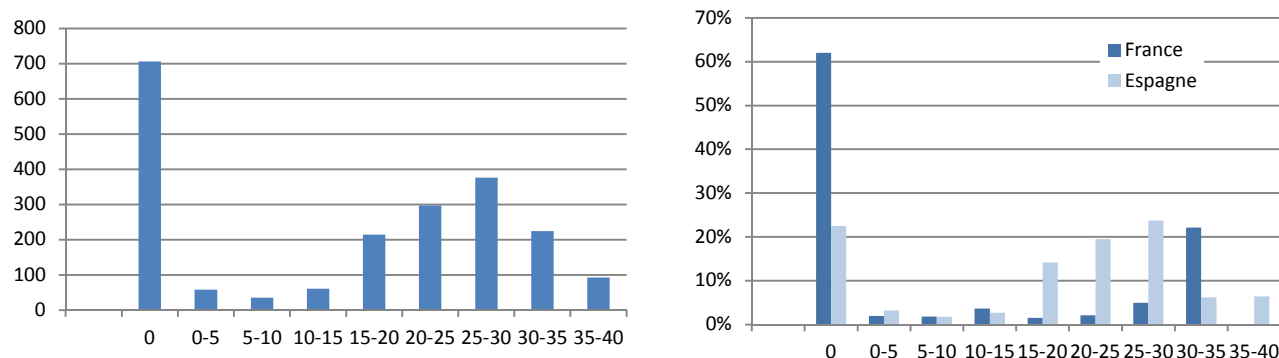
	Individus exposés et non-exposés (TTHM $\geq 0 \mu\text{g/L}$)			Parmi les individus exposés (TTHM $> 1 \mu\text{g/L}$)		
	Ensemble	Témoins	Cas	Ensemble	Témoins	Cas
N*	3753	2163	1590	2770	1535	1235
Moyenne (std)	25,9 (29,1)	24,9 (29)	27,3 (29,3)	35,1 (28,7)	35,2 (28,7)	35,1 (28,8)
Médiane	13	10,6	16,6	30,4	30,4	30,3
Q1	0	0	2,2	7,0	6,5	7,5
Q3	48	48,4	48,4	54,2	56,1	52,1
% de non-exposés						
Seuil de $0 \mu\text{g/L}$	25,7	28,5	21,8			
Seuil de $1 \mu\text{g/L}$	26,2	29,0	22,3			

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

- **La durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée**

La durée d'exposition à de l'eau du robinet chlorée (en années) n'est disponible que pour les études française et espagnole (soit 2067 individus ayant une information concernant le type de source d'eau au domicile pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition). Nous nous intéressons à l'alimentation en eau de surface chlorée car les taux les plus élevés de SPCs sont observés dans ce type d'eau.

La distribution de la durée d'exposition présente une part importante de valeurs nulles (34,2%). Les durées d'exposition non-nulles se distribuent de manière assez symétrique autour de la valeur médiane d'environ 25 ans, avec un intervalle interquartile de [20-30] ans. Les durées courtes d'exposition (entre 1 et 10 ans) sont très peu représentées dans l'échantillon (4,6%) (Figure 10).

Figure 10. Distribution de la durée d'exposition à une eau de surface chlorée (années) dans l'échantillon poolé (N=2067) et les deux études (française et espagnole)

Les distributions des durées d'exposition diffèrent de manière importante entre les études française et espagnole (Tableau 22). La durée médiane d'exposition est de 0 année en France, contre 23,2 ans en Espagne. En France, 62% des individus ont été exposés moins d'une année à une eau de surface chlorée. C'est le cas de seulement 22,5% des sujets de l'étude espagnole.

Tableau 22. Durée d'exposition à une eau de surface chlorée (années) selon l'étude

	France	Espagne	Ensemble
N*	611	1456	2067
Moyenne	10,1	18,6	16,1
Ecart-type	14,2	12,3	13,5
Minimum	0	0	0
1 ^{er} quartile	0	2	0
Médiane	0	23,2	19,6
3 ^{ème} quartile	28	27,0	27,0
Maximum	35	40	40

* Individus dont la source d'eau du robinet est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

La proportion d'individus ayant été exposés à une eau de surface chlorée est légèrement supérieure chez les cas (67,7% versus 64,2% chez les témoins), mais la différence n'est pas statistiquement significative (Test du Khi2, $P=0,10$). Parmi les individus exposés, la durée médiane d'exposition est de 25 années environ et aucune différence significative n'apparaît entre les durées d'exposition des cas et des témoins (test de la médiane : $P>0,45$) (Tableau 23).

Tableau 23. Durée d'exposition à une eau de surface chlorée chez les cas et les témoins (années)

	Ensemble			Parmi les individus exposés (durée >0 année)		
	Cas	Témoins	Ensemble	Cas	Témoins	Ensemble
N*	974	1093	2067	659	702	1361
Moyenne	16,6	15,6	16,1	24,6	24,2	24,4
Ecart-type	13,4	13,5	13,5	8,3	8,7	8,5
Minimum	0	0	0	0,4	0,4	0,4
1er quartile	0	0	0	19,8	19,9	19,9
Médiane	19,9	19,0	19,6	25,0	25,6	25,2
3ème quartile	27,2	26,8	27	30,4	29,6	29,6
Maximum	40	40	40	40	40	40

* Individus dont la source d'eau du robinet est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

La variable de durée a été mise en classes en utilisant l'intervalle inter-quartile égal à [20-30] ans (Tableau 24). Le test du Khi 2 entre la variable mise en classe et le statut cas/témoin confirme l'absence de différence de durée d'exposition à une eau de surface chlorée entre les cas et les témoins (P=0,11).

Tableau 24. Distribution de la durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée (4 catégories) parmi les cas et les témoins

Durée d'exposition (années)	Total		Cas		Témoins	
	N	%	N	%	N	%
0	706	34,1	315	32,3	391	35,8
]0-20]	370	17,9	177	18,2	193	17,7
]20-30]	673	32,6	314	32,2	359	32,8
>30	318	15,4	168	17,3	150	13,7
Total *	2067	100	974	100	1093	100

* Individus dont la source d'eau du robinet est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition de 40 ans

Parmi les individus jamais exposés à une eau de surface chlorée, deux sous-catégories peuvent être distinguées: d'une part, les individus qui n'ont pas été exposés à une eau profonde chlorée non plus et d'autre part, ceux qui ont quand même été exposés à une eau de source profonde chlorée (supposée plus faiblement chlorée que l'eau de surface). Parmi les individus jamais exposés à une eau de surface chlorée, 83,3% ont été exposés à une eau profonde chlorée. Il reste donc 118 individus (97 hommes, 21 femmes) dans l'échantillon qui n'ont jamais été exposés à de l'eau chlorée (qu'elle soit de surface ou profonde) durant la fenêtre d'exposition. Ces individus n'ont en fait pas été exposés à de l'eau distribuée dans les réseaux d'eau potable et ont

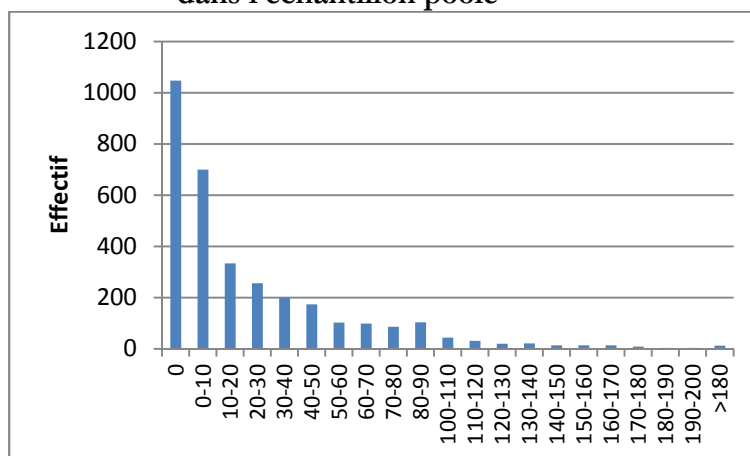
probablement utilisé de l'eau de puits privés dont la qualité est inconnue. Différentes catégories de référence seront utilisées pour mesurer l'association entre la durée d'exposition et le risque de cancer de la vessie, en lien avec ces différentes situations d'exposition.

- **La quantité moyenne de THMs ingérés quotidiennement**

Le calcul de la quantité moyenne de TTHM ingérés quotidiennement permet de pondérer le taux de TTHM moyen présent dans l'eau du robinet par la quantité ingérée par les individus, en moyenne durant la fenêtre d'exposition.

Comme la distribution du niveau du TTHM dans l'eau, celle de la quantité de THMs ingérés quotidiennement présente une forte proportion d'individus non exposés comparable (31,9%). A ceux dont l'eau du robinet ne contient pas de THMs (25,7%) s'ajoutent les individus qui ne consomment pas d'eau du robinet (5,5% de l'échantillon).

Figure 11. Distribution de la quantité de TTHM moyenne ingérée par jour ($\mu\text{g}/\text{jour}$) dans l'échantillon poolé



Cette variable a été mise en classes selon les bornes qui apparaissent dans le Tableau 25. Des terciles (arrondis) ont été utilisés pour définir 3 classes d'exposition non-nulles via l'ingestion quotidienne de THMs.

Tableau 25. Distribution de l'ingestion quotidienne moyenne de TTHM (µg/jour) *

	France N=595		Finlande N=1674		Espagne N=1012		Ensemble N=3281	
		%		%		%		%
0 µg/jour	122	20,5	924	55,2	1	0,1	1047	31,9
>0	473	79,5	750	44,8	2011	99,9	2234	68,1
0 µg/jour	122	20,5	924	55,2	1	0,1	1047	31,9
]0-15]	316	53,1	201	12,0	346	34,2	863	26,3
]15-45]	112	18,8	270	16,1	321	31,7	703	21,4
>45	45	7,6	279	16,7	344	34,0	668	20,4

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

Les disparités inter-études observées quant au niveau environnemental de TTHM se retrouvent pour cette variable. La prise en compte de la consommation d'eau du robinet n'a pas modifié le profil d'exposition de la population dans les 3 études et dans l'ensemble de l'échantillon.

La comparaison des cas et des témoins (Tableau 26) montre que la part des non-exposés via l'ingestion quotidienne est significativement plus élevée parmi les témoins (35,3% versus 27,4% parmi les cas). Les niveaux d'ingestion médians et moyens sont globalement significativement supérieurs chez les cas (test de Wilcoxon unilatéral : $P < 0,0001$; test de la médiane unilatéral : $P < 0,0011$), mais lorsque l'on se restreint aux individus exposés (ingestion quotidienne $> 1 \mu\text{g/jour}$), les différences ne sont plus significatives entre les deux groupes ($P > 0,47$). C'est donc à nouveau le fait d'être exposé ou non aux THMs via l'ingestion qui discrimine les cas et les témoins, et non la quantité de TTHM ingérée quotidiennement. L'intégration de la quantité d'eau du robinet ingérée n'a pas d'effet spécifique pour différencier les cas et les témoins.

Tableau 26. Quantité moyenne de TTHM ingérée quotidiennement (µg/jour) chez les cas et les témoins

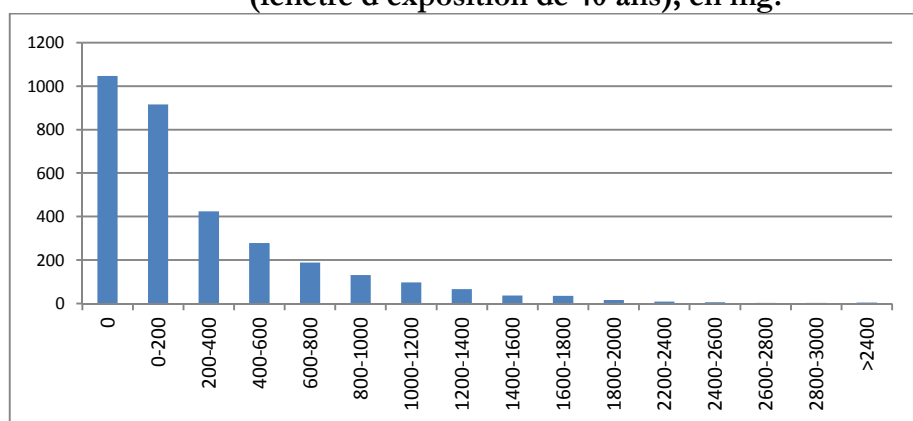
	Ensemble			Parmi les individus exposés (ingestion de TTHM $> 0 \mu\text{g/jour}$)		
	Cas	Témoins	Ensemble	Cas	Témoins	Ensemble
N*	1402	1879	3281	1018	1216	2234
Moyenne	26,2	24,2	25,0	36,0	37,4	36,8
Ecart-type	37,6	37,9	37,8	39,9	41,6	40,8
Minimum	0	0	0	0,02	0,01	0,01
1 ^{er} quartile	0	0	0	7,0	6,2	6,6
Médiane	9,7	5,0	7,1	23,4	23,3	23,4
3 ^{ème} quartile	38,8	33,2	35,7	48,7	54,8	51,3
Maximum	285,6	317,8	317,8	285,6	317,8	317,8

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

- **La quantité cumulée de THMs ingérés (fenêtre d'exposition de 40 ans)**

La quantité cumulée de THMs ingérés reflète simultanément la durée et le niveau d'exposition par ingestion aux THMs. La forme de sa distribution est très semblable à celle de l'ingestion quotidienne de TTHM (Figure 12).

Figure 12. Distribution de l'ingestion cumulée de TTHM (fenêtre d'exposition de 40 ans), en mg.



La part d'individus non-exposés est identique à celle observée pour l'ingestion quotidienne de TTHM, puisque ces variables sont liées, par construction. On retrouve donc à nouveau une part importante d'individus non-exposés (31%), qui diffère fortement d'une étude à l'autre (20,5% pour l'étude française, 55,2 pour l'étude finlandaise, 0,1% pour l'étude espagnole).

Tableau 27. Distribution de l'ingestion cumulée de TTHM (mg) au cours de la vie (fenêtre d'exposition de 40 ans) * selon les études

	France N=595		Finlande N=1674		Espagne N=1012		Ensemble N=3281	
		%		%		%		%
0 (mg)	122	20,5	924	55,2	1	0,1	1047	31,9
]0-100]	271	45,6	126	7,5	223	22,0	620	18,9
]100-500]	154	25,9	330	19,7	377	37,3	861	26,2
]500-1000]	41	6,9	184	11,0	233	23,0	458	14,0
>1000	7	1,2	110	6,7	178	17,6	295	9,0

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

La comparaison des cas et des témoins sur cet indicateur d'exposition montre à nouveau une différence significative du pourcentage d'individus ayant une exposition par ingestion cumulée de TTHM nulle entre les deux groupes, mais aucune différence quant à la quantité de TTHM ingérés au cours de la vie parmi ceux qui en ont ingéré (Tableau 28).

Tableau 28. Ingestion cumulée de TTHM (mg) au cours de la vie (fenêtre d'exposition de 40 ans) – Comparaison des cas et des témoins

	Ensemble			Parmi les individus exposés (ingestion de TTHM > 0 µg/jour)		
	Cas	Témoins	Ensemble	Cas	Témoins	Ensemble
N*	1402	1879	3281	1018	1216	2234
Moyenne	333,1	298,9	313,5	458,8	461,9	460,5
Ecart-type	479,0	468,3	473,1	508,3	513,4	511
Minimum	0	0	0	0,19	0,21	0,19
1 ^{er} quartile	0	0	0	88,1	80,8	83,9
Médiane	125,9	69,0	93,1	293,9	288,1	290,2
3 ^{ème} quartile	495,4	416,5	448,5	673,3	673,1	657,2
Maximum	4169,4	3711,9	4169,4	3711,9	285,6	4169,4

* Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

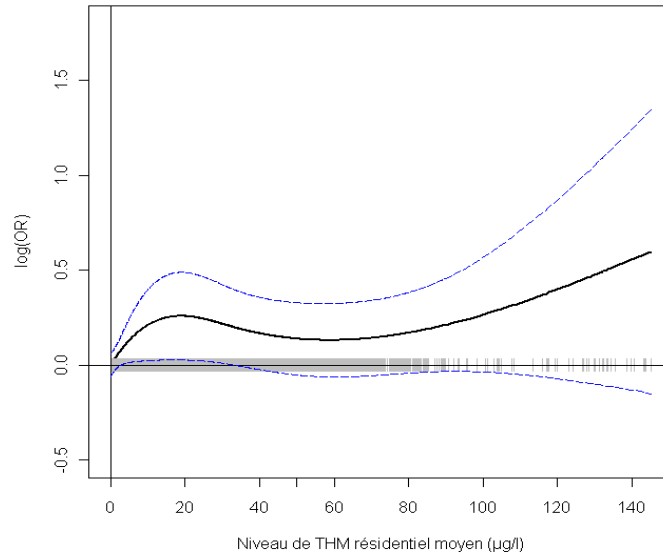
V.1.2 Etude de la relation entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie

Nous allons présenter maintenant les résultats d'association obtenus avec les différents indicateurs d'exposition évoqués ci-dessus.

- **Association avec le niveau moyen de TTHM dans l'eau du robinet**

Le modèle GAM (fonction spline cubique) de la relation entre le taux de THMs moyen résidentiel et le risque de cancer de la vessie, ajusté sur l'étude, le sexe, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux) et la consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L/jour) montre une relation complexe (Figure 13).

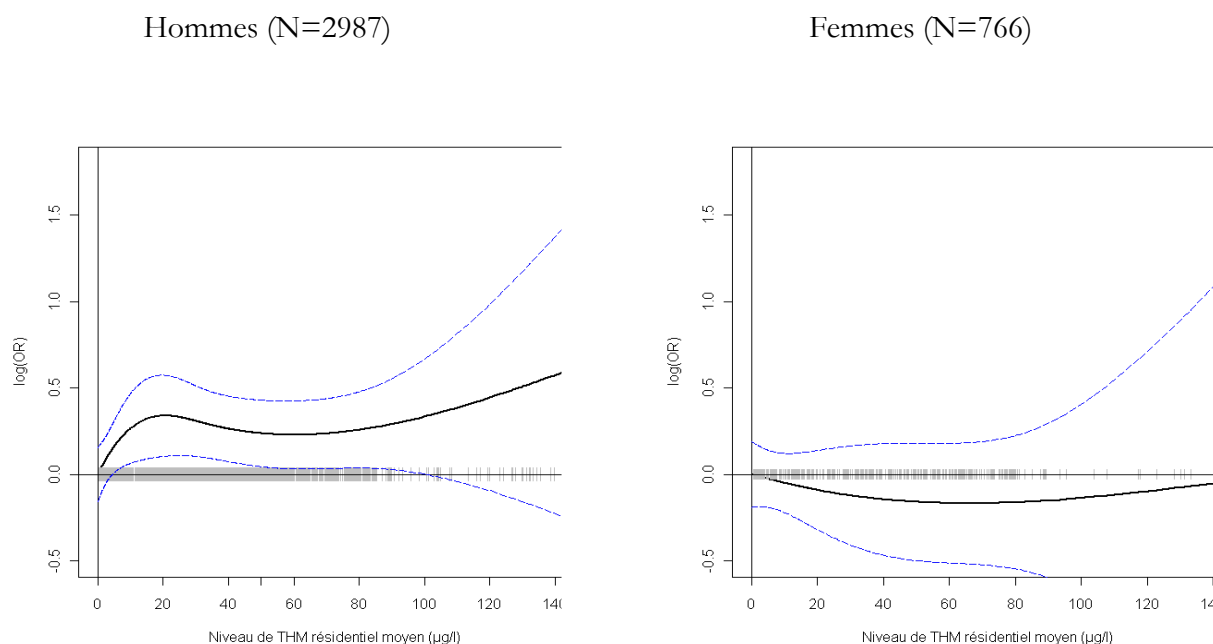
Figure 13. Modèle Additif Généralisé (GAM, fonction spline cubique) de la relation entre le niveau de THM résidentiel ($\mu\text{g/L}$) et le risque de cancer de la vessie (N=3753, hommes et femmes)



Log(OR) et intervalle de confiance à 95%, ajusté sur l'étude, le sexe, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), niveau scolaire atteint (5 niveaux), consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L./jour), individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition. Les petits traits verticaux gris indiquent le nombre d'individus pour chaque niveau d'exposition.

La forme de la relation est principalement due aux hommes, majoritairement présents dans les études (80%), ainsi que le montrent les 2 graphiques correspondant à chaque sexe (Figure 14).

Figure 14. Modèle Additif Généralisé (GAM, fonction spline cubique) de la relation entre le niveau de THM résidentiel ($\mu\text{g/L}$) et le risque de cancer de la vessie



Log(OR) et intervalle de confiance à 95%, ajusté sur l'étude, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), niveau scolaire atteint (5 niveaux), consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L/jour), individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition. Les petits traits verticaux gris indiquent le nombre d'individus pour chaque niveau d'exposition.

Il apparaît clairement que la relation entre l'exposition aux THMs environnementaux et le risque de cancer de la vessie est observée chez les hommes et pas chez les femmes. Nous avons donc procédé à une analyse stratifiée par sexe pour toutes les analyses.

Lorsque l'on utilise la variable d'exposition en catégories, on obtient les résultats suivants :

Tableau 29. Association entre le niveau de TTHM résidentiel ($\mu\text{g/L}$) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%})

TTHM ($\mu\text{g/L}$)	Hommes		Femmes	
	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})
0	265/448	1	82/168	1
>0	1053/1220	1,20 (0,94-1,52)	188/327	0,73 (0,48-1,12)
[0-5]	480/730	1	112/220	1
>5	838/938	1,24 (1,01-1,52)	158/275	0,91 (0,61-1,35)
[0-5]	480/730	1	112/220	1
[5-25]	223/271	1,10 (0,85-1,42)	44/76	1,00 (0,58-1,71)
[25-50]	307/301	1,35 (1,04-1,75)	48/66	1,29 (0,76-2,18)
>50	308/366	1,32 (1,01-1,71)	66/133	0,70 (0,43-1,14)
Tendance linéaire (P)		0,02		0,27

* OR et intervalles de confiance à 95%, ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux), la consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L/jour). Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

L'odds-ratio comparant les individus exposés à une eau contenant plus de 5 $\mu\text{g/L}$ de THMs aux individus exposés à moins de 5 $\mu\text{g/L}$ de THMs est de 1,24 (1,01-1,52). En décomposant les catégories d'exposition supérieures à 5 $\mu\text{g/L}$ de THMs, on observe une tendance à l'accroissement des ORs avec l'augmentation de l'exposition. Les ORs sont significatifs à partir de 25 $\mu\text{g/L}$, leurs valeurs sont très proches.

Chez les femmes, on n'observe pas d'association entre l'exposition environnementale et le risque de cancer de la vessie.

Lorsque l'on découpe plus finement la catégorie des individus exposés à plus de 50 $\mu\text{g/L}$, isolant les individus exposés à un taux moyen de THM résidentiel de plus de 75 $\mu\text{g/L}$, on observe un OR de 1,53 [1,06-2,19] pour la catégorie des plus de 75 $\mu\text{g/L}$ chez les hommes. L'absence d'association observée chez les femmes est semblable à celle déjà mise en évidence dans l'analyse par splines cubiques (Tableau 30).

Tableau 30. Association entre le niveau de TTHM résidentiel (µg/L) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%}) - 6 catégories d'exposition

TTHM (µg/L)	Hommes		Femmes	
	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})
[0-5]	480/730	1	122/220	1
]5-25]	223/271	1,10 (0,85-1,42)	44/76	1,00 (0,59-1,72)
]25-50]	307/301	1,34 (1,03-1,74)	48/66	1,29 (0,76-2,19)
]50-75]	197/244	1,23 (0,93-1,64)	35/69	0,76 (0,43-1,34)
>75	111/122	1,53 (1,06-2,19)	31/64	0,64 (0,35-1,17)

* OR et intervalles de confiance à 95%, ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux), la consommation totale de liquides (binaire, seuil=1 L/jour). Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

Parmi les facteurs d'ajustement, le statut tabagique et le fait d'avoir eu une activité professionnelle à risque pour le cancer de la vessie sont significativement associés à une élévation du risque de cancer de la vessie, dans les modèles incluant les hommes et les deux sexes. Le niveau scolaire atteint n'est pas significatif dans le modèle incluant les hommes seulement, il l'est lorsque l'on inclut les hommes et les femmes. La consommation de café n'est significative dans aucun des modèles.

Les résultats trouvés sont robustes à l'ajustement sur la consommation totale de boissons ou d'eau du robinet, ainsi qu'au codage de ces variables dans les modèles: les boissons ont été introduites comme des variables binaires, mais les résultats d'association entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie sont similaires lorsque l'on utilise des catégories plus fines (Tableau 30). La variable indiquant la consommation de boissons n'est pas significative: on n'observe pas d'augmentation du risque de cancer de la vessie associée à la consommation importante de boissons. Le Tableau 31 ci-dessous montre une grande stabilité des ORs estimés selon les différents ajustements utilisés pour tenir compte de la consommation de boissons.

Tableau 31. Association entre le niveau de TTHM résidentiel (µg/L) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%}) selon différents ajustements sur la consommation d'eau (hommes)

Type d'ajustement sur la consommation d'eau de boisson				
Niveau de TTHM (µg/L)	Consommation totale d'eau (4 catégories)	Consommation totale d'eau (variable binaire)	Consommation d'eau du robinet (variable binaire)	Pas d'ajustement
[0-5]	1	1	1	1
]5-25]	1,10 (0,85-1,42)	1,10 (0,85-1,42)	1,15 (0,88-1,52)	1,10 (0,85-1,42)
]25-50]	1,34 (1,03-1,74)	1,35 (1,04-1,75)	1,15 (0,87-1,52)	1,34 (1,03-1,73)
>50	1,30 (1,00-1,69)	1,32 (1,01-1,71)	1,34 (1,03-1,76)	1,31 (1,01-1,71)

* OR et intervalles de confiance à 95%, ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

Il apparaît donc que le risque de cancer de la vessie associé à l'exposition aux THMs dans l'eau du robinet au domicile observé chez les hommes n'est pas modifié par l'ajustement sur la consommation moyenne d'eau du robinet et de boissons en général.

- **Association avec la durée d'exposition à une eau de surface chlorée**

Le tableau ci-dessous présente l'association entre la durée d'exposition à une eau de surface chlorée et le risque de cancer de la vessie, en utilisant 3 définitions de la classe de référence.

- La première classe de référence est constituée de tous les individus jamais exposés à de l'eau de surface chlorée (mais certains d'entre eux ont pu être exposés à de l'eau profonde chlorée).
- La deuxième classe de référence exclut de l'analyse les individus exposés à aucune eau chlorée, y compris l'eau profonde. Ces derniers ont la particularité de n'avoir jamais été alimentés en eau potable par des réseaux publics et la qualité de l'eau qu'ils ont consommée est de ce fait inconnue. Les individus de référence sont donc des individus exposés à de l'eau profonde chlorée, mais pas à de l'eau de surface chlorée.
- La troisième façon de coder la variable durée d'exposition consiste à se limiter aux individus exposés à de l'eau de surface chlorée et à étudier le lien entre durée d'exposition et risque de cancer uniquement parmi les exposés.

Tableau 32. Association de la durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée avec le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%})

Années	Hommes		Femmes**	
	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})
0	271/338	1	43/53	1
]0-20]	158/166	1,24 (0,78-1,98)	19/27	0,70 (0,31-1,58)
]20-30]	272/307	1,39 (0,87-2,21)	41/52	0,92 (0,46-1,83)
>30	145/135	1,57 (1,00-2,48)	23/15	1,94 (0,86-4,38)
0, mais exposés à une eau profonde chlorée	229/282	1	31/44	1
]0-20]	158/166	1,22 (0,76-1,95)	19/27	0,65 (0,18-2,39)
]20-30]	272/307	1,35 (0,84-2,16)	41/52	0,77 (0,22-2,68)
>30	145/135	1,53 (0,97-2,42)	23/15	1,77 (0,50-6,30)
]0-20]	158/166	1	19/27	1
]20-25]	140/122	1,31 (0,90-1,91)	16/19	1,24 (0,46-3,32)
]25-30]	132/185	0,92 (0,63-1,36)	25/33	0,98 (0,38-2,53)
>30	145/135	1,27 (0,86-1,86)	23/15	2,34 (0,77-7,16)
Tendance linéaire (P)		0,02		0,76

* OR et intervalles de confiance à 95%, ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). Individus dont la source d'eau du robinet est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

** Dans les modèles logistiques incluant les femmes seulement, les femmes ayant des valeurs manquantes sur le statut tabagique ou un niveau scolaire inconnu ont été exclues.

On observe une tendance linéaire croissante entre la durée d'exposition à une eau de surface chlorée et le risque de cancer de la vessie chez les hommes ($P=0,02$). Les hommes exposés plus de 30 ans à une eau de surface chlorée ont un odds-ratio de 1,57 [1,00-2,48] par rapport aux hommes jamais exposés à une eau de surface chlorée (ceux-ci ont pu cependant être exposés à une eau profonde chlorée). Lorsque l'on exclut de l'analyse les hommes jamais exposés à une eau chlorée (même profonde), la tendance linéaire est conservée, les ORs sont légèrement revus à la baisse et sont non-significatifs. Lorsque l'on se restreint aux hommes exposés à de l'eau de surface chlorée et que l'on distingue des catégories plus fines d'exposition intermédiaire (séparation en deux de la catégorie]20-30] ans), on observe que la relation n'est pas complètement monotone, la catégorie]25-30] ans présentant un OR inférieur à 1 par rapport à une exposition inférieure à 20 ans.

La sensibilité de ces résultats à la présence de cofacteurs d'ajustement tels que la consommation de liquides et le niveau moyen de TTHM dans les réseaux d'eau a été testée. Le Tableau 33 montre que l'estimation de l'effet de la durée d'exposition n'est pas modifiée par la prise en compte de la quantité de liquides ingérés, mais est très sensible à la présence de la variable d'intensité moyenne de l'exposition (niveau moyen de TTHM dans l'eau du robinet): les odds-ratios associés à la durée d'exposition sont très fortement diminués pour toutes les catégories et ne sont plus significatifs. Lorsqu'elles sont présentes simultanément dans le modèle, la durée et l'intensité de l'exposition au TTHM apparaissent non-significatives statistiquement.

Tableau 33. Association de la durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée avec le risque de cancer de la vessie, selon différents ajustements (OR ajustés * et IC_{95%}) - Hommes

Durée de l'exposition (années)	Aucun ajustement additionnel	Ajustement sur la consommation de liquides	Ajustement sur le niveau moyen de TTHM
0	1	1	1
]0-20]	1,24 (0,78-1,98)	1,25 (0,78-1,99)	0,97 (0,52-1,80)
]20-30]	1,39 (0,87-2,21)	1,37 (0,86-2,18)	0,91 (0,45-1,86)
>30	1,57 (1,00-2,48)	1,58 (1,00-2,48)	1,02 (0,48-2,15)

* OR ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). Individus dont la source d'eau du robinet et le niveau d'exposition sont connus pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

Ce résultat s'explique par le fait que la durée d'exposition des individus à une eau de surface chlorée et le niveau moyen de TTHM résidentiel sont fortement corrélés positivement (corrélation de Pearson= 0,74 (P<0,0001), Spearman=0,84 (P<0.0001). Le Tableau 34 montre que l'on n'observe pas dans l'échantillon d'individus exposés longtemps (plus de 20 ans) à des concentrations faibles de TTHM (de 0 à 5 µg/L). Symétriquement, les individus exposés à des concentrations de TTHM élevées, le sont pour au moins 20 ans. Il nous est donc difficile de séparer les effets de la durée et du niveau de l'exposition.

Tableau 34. Croisement entre la durée d'exposition des individus à une eau de surface chlorée et le taux moyen de THMs présents dans l'eau du robinet (effectifs)

		Taux de THM résidentiel moyen (µg/L)				Total *
		[0-5]]5-25]]25-50]	>50	
Durée (années)	0	598	108	0	0	706
	[1-10]	22	69	3	0	94
]10-20]	0	138	129	9	276
]20-30]	0	102	296	275	673
	>30	0	9	116	193	318
	Total	620	426	544	477	2067

* Individus dont la source d'eau du robinet est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

Test du Kbi2 : $P < 0.0001$

- **Effet conjoint de la durée et du niveau moyen d'exposition à une eau de surface chlorée**

L'interaction entre les variables d'intensité et de durée d'exposition a été introduite dans la modélisation du risque de cancer de la vessie. Elle comprend 8 catégories définies dans le Tableau 35. Les individus appartenant à des catégories à trop faible effectif ont été regroupés avec ceux de la catégorie adjacente en termes de durée ou d'intensité d'exposition. L'interaction n'est pas statistiquement significative à 5% ($P=0,11$) chez les hommes et est non-significative pour les femmes (0,43). Les OR estimés pour chacun des croisements de modalités sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les OR les plus élevés et statistiquement significatifs ne correspondent pas aux catégories cumulant une durée et une intensité d'exposition élevées. On n'observe pas au sein de chaque catégorie d'intensité d'exposition de relation croissante du risque avec la durée d'exposition. Les individus exposés à un taux moyen de TTHM de 25 à 50 µg/L présentent un doublement du risque de cancer de la vessie, y compris pour des durées d'exposition limitées. Dans cette catégorie d'intensité, dans laquelle tous les odds-ratios sont significatifs, on n'observe pas de relation monotone du risque avec la durée d'exposition. On l'observe dans la catégorie d'intensité d'exposition la plus élevée (taux moyen résidentiel de TTHM >50 µg/L), mais les odds-ratios bien qu'indiquant une augmentation du risque, restent statistiquement non-significatifs.

Tableau 35. Association entre l'interaction durée x niveau d'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%}, ratios cas/témoins), hommes (N=2067)

		Taux moyen résidentiel de TTHM (µg/L)			
		[0-5]]5-25]]25-50]	>50
Durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée (années)	0	1 276/353			
]0-20]		1,43 (0,89-2,31) 79/95	2,01 (1,02-3,97) 74/56	++
]20-30]		1,40 (0,78-2,52) 43/50	1,86 (1,16-2,98) 130/127	1,36 (0,74-2,47) 103/134
	>30		+	1,97 (1,17-3,30) 63/47	1,62 (0,93-2,84) 78/84

OR et intervalles de confiance à 95% ajustés sur le centre, le sexe, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). Individus dont la source d'eau du robinet et le niveau d'exposition sont connus pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

+ 9 individus affectés à la catégorie de durée inférieure ([20-30])

++ 8 individus affectés à la catégorie d'intensité d'exposition inférieure ([25-50])

• Association avec l'exposition aux THMs via l'ingestion

Les deux indicateurs d'exposition prenant en compte l'ingestion sont le niveau moyen de TTHM ingéré quotidiennement (en µg/jour) et la quantité cumulée de TTHM ingérée au cours de la fenêtre d'exposition. Aucune association n'apparaît avec le risque de cancer de vessie pour ces indicateurs d'exposition via l'ingestion (Tableau 36).

La pondération du niveau environnemental de THMs dans l'eau par l'ingestion de cette eau ne permet donc pas de mettre en évidence une relation dose-effet entre l'exposition et le risque de cancer de la vessie, même chez les hommes.

Tableau 36. Association entre la quantité de TTHM ingérée quotidiennement (µg/jour) ou cumulée (mg) au cours de la fenêtre d'exposition (40 ans) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés * et IC_{95%})

	Hommes		Femmes	
	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})
Ingestion moyenne (µg/jour)				
0	300/484	1	84/179	1
>0	853/948	1,10 (0,88-1,38)	164/268	0,86 (0,57-1,29)
0	300/484	1	84/179	1
]0-15]	341/387	1,08 (0,82-1,43)	54/79	0,76 (0,42-1,37)
]15-45]	267/290	1,09 (0,82-1,45)	57/89	0,95 (0,57-1,60)
>45	244/271	1,13 (0,83-1,53)	53/100	0,78 (0,46-1,31)
Tendance linéaire (P)		0,18		0,27
Ingestion cumulée (mg)				
0	300/484	1	84/179	1
]0-100]	236/289	0,98 (0,73-1,33)	39/54	0,88 (0,44-1,57)
]100-500]	333/356	1,16 (0,88-1,52)	62/110	0,80 (0,48-1,33)
]500-1000]	177/188	1,14 (0,84-1,56)	44/49	1,41 (0,80-2,49)
>1000	106/115	1,19 (0,79-1,79)	19/55	0,39 (0,19-0,83)
Tendance linéaire (P)		0,18		0,07

* OR et intervalles de confiance à 95%, ajustés sur le centre, l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux). Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition.

- **Association avec l'exposition via les douches, les bains et la fréquentation de la piscine**

L'information sur l'exposition aux THMs via les douches, bains et baignade en piscine n'est disponible que pour les individus de l'étude espagnole (Villanueva et al. 2007a). L'analyse poolée n'apporte donc pas d'éléments supplémentaires, si ce n'est la possibilité de ré-analyser les données en utilisant les variables d'ajustement précédemment utilisées pour les autres voies d'exposition.

Le Tableau 37 présente les résultats publiés par (Villanueva et al. 2007a), avec la fenêtre d'exposition et les ajustements spécifiques. Le Tableau 38 présente les résultats obtenus par ré-analyse avec les facteurs d'ajustement retenus dans notre étude pour les autres sources d'exposition.

Tableau 37. Association entre la durée moyenne des douches et bains pondérée par le niveau de TTHM résidentiel (minutes/jour x µg/L) et le risque de cancer de la vessie – Etude originale (Villanueva et al. 2007a)

	Hommes		Femmes	
	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})
Durée des douches et bains x niveau de TTHM résidentiel (minutes/jour x µg/L)				
<50	86/133	1	18/16	1
]50-167]	142/167	1,63 (1,09-2,45)	17/33	0,41 (0,15-1,09)
]167-333]	103/117	1,79 (1,11-2,88)	11/24	0,38 (0,11-1,24)
>333	146/157	2,01 (1,23-3,28)	23/13	2,26 (0,58-8,90)
Fréquentation de la piscine				
Jamais fréquenté	539/684	1	99/130	1
A fréquenté	138/112	1,62 (1,20-2,19)	11/10	1,53 (0,58-4,06)

* Individus dont la source d'eau du robinet et le niveau d'exposition sont connus pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition. Les ORs sont ajustés sur le statut tabagique, l'âge, le sexe, le niveau d'études, la zone géographique, l'exposition professionnelle et la consommation de liquides.

Tableau 38. Association entre la durée moyenne des douches et bains pondérée par le niveau de TTHM résidentiel (minutes/jour x µg/L) et le risque de cancer de la vessie – Données réanalysées, avec facteurs d'ajustement modifiés.

	Hommes		Femmes	
	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR (IC _{95%})
Durée des douches et bains x niveau de TTHM résidentiel (minutes/jour x µg/L)				
<50	84/126	1	17/13	1
]50-167]	141/161	1,53 (1,01-2,31)	17/34	0,24 (0,08-0,72)
]167-333]	100/115	1,57 (0,97-2,56)	12/26	0,30 (0,08-1,10)
>333	134/151	1,76 (1,07-2,89)	22/12	2,16 (0,43-10,77)
Fréquentation de la piscine				
Jamais fréquenté	383/496	1	67/90	1
A fréquenté	102/83	1,69 (1,18-2,41)	7/6	1,25 (0,35-4,47)

* Individus dont la source d'eau du robinet et le niveau d'exposition sont connus pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition, ajustement sur le statut tabagique, l'âge, le sexe, le niveau d'études, l'urbanité du lieu de résidence le plus longtemps habité jusqu'à l'âge de 18 ans, la qualité globale de l'entretien et la zone géographique.

On observe une augmentation du risque de cancer de la vessie associée à une exposition croissante aux THMs via les bains et les douches chez les hommes uniquement. L'ordre de grandeur des odds-ratios associés est élevé (de 1,53 à 1,76) par comparaison avec ceux obtenus pour l'exposition environnementale aux THMs (OR jusqu'à 1,35). Mais seule la plus haute valeur d'exposition est associée à un OR significativement différent de 1.

En ce qui concerne la fréquentation de piscines, on observe un risque significativement accru de cancer de la vessie chez les hommes qui ont fréquenté une piscine au cours de la fenêtre d'exposition. L'effet chez les femmes n'est pas significatif mais les effectifs sont extrêmement faibles, ce qui rend les résultats ininterprétables.

Résumé des résultats obtenus par l'analyse « poolée » des 3 études

Nous avons observé une relation croissante entre le niveau environnemental de TTHM, la durée d'exposition à une eau de surface chlorée et le risque de cancer de la vessie chez les hommes. Le rôle joué respectivement par le niveau de TTHM et la durée de l'exposition n'est pas clairement établi du fait de la forte corrélation liant les deux éléments et leur interaction n'est pas facilement interprétable (les individus exposés le plus longtemps aux niveaux les plus élevés ne présentent pas les risques les plus élevés de cancer de la vessie). Aucune association n'a été observée entre les indicateurs d'exposition intégrant l'ingestion d'eau du robinet (que ce soit en moyenne journalière ou en cumulé au long de la vie) et le risque de cancer de la vessie. L'étude espagnole est la seule à utiliser des indicateurs d'exposition aux THMs via les douches, les bains et les piscines. Ces indicateurs apparaissent significativement liés au risque de cancer de la vessie, avec des niveaux de risque supérieurs à ceux observés avec l'exposition environnementale.

V.2 Résultats issus de la méta-analyse

Pour la méta-analyse, nous nous sommes focalisés sur la variable « concentration en TTHM environnemental » qui est la variable d'exposition présentant l'association la plus marquée avec le risque de cancer de la vessie (les données sur les douches et bains n'étant disponibles que dans l'étude espagnole). D'autre part, les effets de l'exposition ayant été observés de manière récurrente exclusivement chez les hommes, la méta-analyse ne concerne que les hommes.

Conformément à la logique de la méta-analyse en 2 phases (Stukel et al. 2001), nous avons travaillé sur les données brutes des études initiales, en harmonisant les fenêtres d'exposition, la définition des catégories d'exposition et en ajoutant des cofacteurs spécifiques à chaque étude. Une nouvelle mesure d'association entre l'exposition environnementale aux THMs (taux de TTHM moyen dans les réseaux alimentant les domiciles successifs) et le risque de cancer de la vessie a ainsi été estimée dans chaque étude.

V.2.1 Estimation de la relation exposition – risque de cancer de la vessie dans chaque étude

- **L'étude française**

Dans la publication originale de l'étude française, les auteurs montrent un effet modérateur de l'ozonation de l'eau potable sur le risque de cancer de la vessie. L'association entre l'exposition aux THMs (mesurée par le niveau moyen de THM dans l'eau et la durée d'exposition à de l'eau de surface chlorée) et le risque de cancer de la vessie est en effet modifiée par l'intégration dans les modèles de la durée d'exposition à de l'eau ozonée. Nous avons donc intégré la durée d'exposition à une eau ozonée dans le modèle associant l'exposition aux THMs environnementaux et le risque de cancer de la vessie, pour l'étude française.

La durée d'exposition à de l'eau ozonée est répartie en trois catégories : 0, [0-10], >10 ans. Cette information n'est disponible que pour 516 individus parmi les 611 individus (84%) pour lesquels le niveau moyen de THMs dans l'eau distribuée au domicile est connu pour 70% de la durée de la fenêtre d'exposition. Le modèle d'estimation est par ailleurs ajusté sur les autres facteurs utilisés précédemment dans l'analyse poolée, c'est-à-dire l'hôpital, l'âge, le sexe, le statut socio-économique, le tabagisme, la consommation de café, la consommation d'eau du robinet.

Tableau 39. Relation entre le niveau de TTHM résidentiel (µg/L) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés* et IC_{95%}) – Etude française

Niveau de THMs (µg/L)	Hommes		Ensemble	
	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})
]0-5]	140/183	1	167/213	1
	>5	1,79 (0,89-3,60)	108/122	1,68 (0,87-3,26)
]5-25]	140/183	1	167/213	1
	15/14	1,88 (0,72-4,93)	16/17	1,61 (0,65-3,98)
	29/37	1,65 (0,75-3,63)	33/42	1,60 (0,76-3,37)
	>50	2,10 (0,85-5,14)	59/63	2,11 (0,91-4,91)

*OR et intervalles de confiance à 95% ajustés sur l'hôpital (centre), le sexe (modèle avec les 2 sexes), l'âge (en continu) au diagnostic (cas) ou à l'inclusion (témoins), le statut tabagique (non-fumeur/ fumeur ayant arrêté/ fumeur au moment de l'inclusion), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation journalière de café (<=3 tasses/ >3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux), la consommation totale de boissons (variable binaire, seuil=1 L/jour), la durée d'exposition à une eau de surface ozonée (3 catégories : 0,]0-10], >10 années). Individus dont l'exposition est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition

Par rapport aux résultats de l'étude originale (Table 62, Annexe A), la nouvelle définition de la classe de référence]0-5] µg/L (au lieu de [0-1] µg/L) dans laquelle se trouve 62% de l'échantillon français a fait perdre en puissance les comparaisons avec les catégories d'exposition supérieure (effectifs restreints). L'OR associé à la catégorie la plus exposée (>50 µg/L), égal à 3,7 dans l'étude originale, devient 2,1 (non-significatif) dans la nouvelle analyse.

• L'étude espagnole

Dans l'étude espagnole, les modèles sont ajustés sur le degré d'urbanisation de la résidence dans laquelle l'individu a habité jusqu'à l'âge de 18 ans, un indicateur de la fiabilité des données recueillies lors des entretiens, ainsi que la zone géographique. De plus, cette étude s'intéresse aussi à l'effet de l'exposition aux THMs via les douches et les bains et la fréquentation de la piscine, dans des modèles séparés. Nous avons introduit cette variable dans notre modèle comme covariable, au même titre que la consommation d'eau du robinet.

Tableau 40. Relation entre le niveau de TTHM résidentiel (µg/L) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés* et IC_{95%}) – Etude espagnole

Niveau de TTHM (µg/L)	Hommes		Ensemble	
	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})
]0-5] >5	88/121	1	100/138	1
	525/536	1,41 (0,93-2,15)	599/622	1,34 (0,91-1,99)
]0-5]]5-25]]25-50] >50	88/121	1	100/138	1
	154/181	1,29 (0,84-1,98)	180/216	1,24 (0,83-1,84)
	230/190	2,14 (1,27-3,63)	253/215	1,95 (1,20-3,17)
	141/165	1,90 (0,95-3,82)	166/191	1,62 (0,85-3,11)

OR ajusté sur : le sexe (modèle incluant les 2 sexes), l'âge (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ex-fumeur/fumeur), l'exercice d'une profession à risque (a exercé/ n'a jamais exercé), la consommation quotidienne de café (<=3 tasses/>3 tasses), niveau scolaire atteint (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L/jour), l'urbanité du lieu de résidence le plus longtemps habité jusqu'à l'âge de 18 ans, la qualité globale de l'entretien et la zone géographique, la fréquentation de piscines (jamais/oui), la durée moyenne des douches et bains (minutes/jour).

L'effet de la variable « fréquentation de la piscine » est significatif dans les modèles incluant les hommes (OR=1,66 ; IC=[1,16-2,21]), la durée moyenne des douches et bains n'est par contre pas significative. Ces deux variables sont corrélées (test du Khi-2 : P<0,0001). De même, les individus qui sont exposés aux niveaux moyens de THMs les plus élevés sont ceux qui sont les plus susceptibles d'avoir fréquenté une piscine au cours de la fenêtre d'exposition. Lorsque les deux variables sont présentes dans le modèle, l'effet de la fréquentation d'une piscine semble dominer statistiquement.

Par rapport aux résultats de l'étude initiale (Table 64, Annexe A), la fenêtre d'exposition utilisée pour estimer l'exposition a été redéfinie. Elle était originellement d'une durée variable, correspondant aux années écoulées entre l'âge de 15 ans et l'âge de l'individu à l'inclusion dans l'étude. Pour cette analyse, elle a été ramenée à 40 années. Ceci a eu pour effet de réduire en moyenne de 10 ans la durée de la fenêtre d'exposition considérée (de 49,9 ans à 39,8 ans). Cette réduction n'a pas eu d'impact sur le niveau moyen de TTHM environnemental estimé pour chaque individu (variation médiane de + 0,20 µg/L, non statistiquement significativement différente de 0). En gardant les mêmes catégories d'exposition que l'étude originale, le changement de fenêtre d'exposition n'a entraîné le changement de catégorie d'exposition que de 11% des individus (à part égale vers une catégorie supérieure ou inférieure). Le ratio cas/témoins de chaque catégorie d'exposition n'a été que faiblement modifié.

Le changement de la définition de la catégorie de référence a par contre eu plus d'impact sur l'estimation des ORs. Elle correspondait à des concentrations inférieures à 8 µg/L au lieu de concentrations inférieures à 5 µg/L dans la nouvelle analyse. Les effectifs de la catégorie de référence ont diminué et les ORs associés aux catégories supérieures apparaissent maintenant plus faibles (1,90 [0,95-3,82] contre 2,5 [1,23-5,20]).

- **L'étude finlandaise**

Les estimations de risque présentées dans l'étude originale étaient ajustées sur l'âge, le statut socio-économique et le tabagisme uniquement (Table 63, Annexe A). Il était précisé que l'introduction de facteurs supplémentaires n'influaient pas les résultats obtenus. Nous avons cependant ajouté les mêmes cofacteurs de base pour les 3 études (exposition professionnelle, consommation quotidienne de café, consommation totale de liquides) et modifié les seuils des catégories d'exposition utilisées, afin de les rendre identiques dans les 3 études avant la méta-analyse.

Tableau 41. Relation entre le niveau de THM résidentiel (µg/L) et le risque de cancer de la vessie (OR ajustés* et intervalles de confiance à 95%) – Etude finlandaise.

Niveaux de THM (µg/L)	Hommes		Ensemble	
	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})	Cas/Témoins	OR* (IC _{95%})
]0-5] >5	251/426	1	325/599	1
	219/295	1,16 (0,89-1,52)	288/469	1,08 (0,86-1,36)
]0-5]]5-25]]25-50] >50	251/426	1	325/599	1
	54/76	1,16 (0,78-1,74)	71/114	1,15 (0,81-1,62)
	47/73	0,97 (0,63-1,48)	68/110	1,08 (0,76-1,54)
	118/146	1,27 (0,92-1,76)	149/245	1,06 (0,81-1,39)

* OR ajusté sur le sexe (modèle incluant les 2 sexes), l'âge (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ex-fumeur/fumeur), l'exercice d'une profession à risque pour le cancer de la vessie (oui/jamais), la consommation quotidienne de café (<=3 tasses/>3 tasses), le niveau scolaire atteint (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L/jour)

Les comparaisons avec les résultats de l'étude initiale sont rendus difficiles par l'utilisation du niveau de mutagénicité de l'eau comme marqueur d'exposition aux SPCs dans l'article initial, mais les niveaux estimés des associations semblent peu impactés par ce changement.

V.2.2 Méta-analyse

La méta-analyse a été réalisée pour les deux modes de codage de l'exposition environnementale moyenne aux THMs : en variable binaire (exposés/non-exposés) et en variables à plusieurs catégories.

Le test d'hétérogénéité de Cochran (Khi-2) a été utilisé, mais compte tenu du faible nombre d'études impliquées dans la méta-analyse, sa puissance est très limitée. Il ne permet effectivement pas de rejeter l'hypothèse d'homogénéité des odds-ratios issus des 3 études. Les ORs combinés ont donc été calculés à l'aide d'un modèle mixte, en laissant la possibilité d'une hétérogénéité inter-étude.

Tableau 42. Association entre le niveau de TTHM environnemental et risque de cancer de la vessie: OR estimés dans les études individuelles, dans l'analyse poolée et la méta-analyse – Hommes dont l'exposition aux THMs est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition de 40 ans.

	France *	Finlande *	Espagne *	Méta-analyse **	Analyse poolée (rappel)
Niveau de TTHM (µg/L)					
0-5	1	1	1	1	1
>5	1,79 (0,89-3,60)	1,16 (0,89-1,52)	1,41 (0,93-2,15)	1,27 (1,03-1,58)	1,24 (1,01-1,52)
>0-5	1	1	1	1	1
>5-25	1,88 (0,72-4,93)	1,16 (0,78-1,74)	1,29 (0,84-1,98)	1,27 (0,95-1,68)	1,10 (0,85-1,42)
>25-50	1,65 (0,75-3,63)	0,97 (0,63-1,48)	2,14 (1,27-3,63)	1,46 (0,86-2,46)	1,35 (1,04-1,75)
>50	2,10 (0,85-5,14)	1,27 (0,92-1,76)	1,90 (0,95-3,82)	1,47 (1,05-2,05)	1,32 (1,01-1,71)
Tendance linéaire (p)	0,07	0,09	0,09	0,01	0,02

* Tous les ORs sont ajustés sur l'âge au diagnostic (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ancien fumeur/fumeur actuel), l'exposition professionnelle (oui/non), la consommation quotidienne de café (<=3 tasses/>3 tasses), le niveau d'études (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L/jour) ;

Pour l'étude française, les ORs sont ajustés en plus sur l'hôpital et la durée d'exposition à de l'eau de surface ozonée (3 catégories); N=522 hommes, dont le niveau d'études est connu.

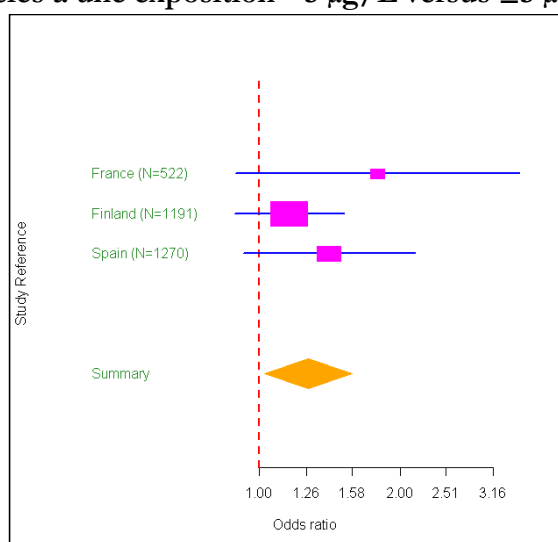
Pour l'étude finlandaise, aucun ajustement complémentaire; N=1191 hommes.

Pour l'étude espagnole, les ORs sont ajustés de plus sur la zone géographique, le degré d'urbanisation de la commune où l'individu a vécu le plus longtemps avant l'âge de 18 ans, la qualité de l'entretien, la fréquentation de la piscine au cours de la fenêtre d'exposition, la durée moyenne des douches/bains (binaire, seuil=10min/jour); N=1270 hommes dont le statut tabagique est connu.

** Estimateurs combinés par un modèle à effets mixtes.

L'excès de risque chez les hommes exposés comparés aux hommes non-exposés (0-5 $\mu\text{g/L}$ vs $>5 \mu\text{g/L}$) varie de 1,16 (Finlande) à 1,79 (France), donnant un risque combiné de 1,27 (1,03-1,58).

Figure 15. Méta-analyse de l'association entre l'exposition environnementale aux THMs (concentration moyenne en TTHM dans les réseaux) et le risque de cancer de la vessie (3 études cas-témoins européennes, chez les hommes). ORs associés à une exposition $>5 \mu\text{g/L}$ versus $\leq 5 \mu\text{g/L}$.



Lorsque l'on utilise des catégories plus fines d'exposition (Tableau 43), on observe une augmentation de l'OR combiné lorsque le niveau d'exposition augmente. La tendance linéaire globale observée est statistiquement significative, mais on n'observe pas de tendance significative au sein de chacune des études, la variation des ORs n'étant pas monotone en fonction du niveau d'exposition. On observe que les ORs issus de la méta-analyse sont systématiquement supérieurs à ceux observés en analyse poolée. Les résultats obtenus sur l'échantillon finlandais ont tendance à influencer les ORs globaux à la baisse.

V.2.3 Quelle spécificité Européenne ? Résultats de la méta-régression

Les 3 études américaines et canadiennes présentes dans la première analyse poolée (Villanueva et al. 2004) ont été jointes à la méta-analyse. Chacune d'elles a fait l'objet d'une estimation des ORs d'intérêt, en utilisant les mêmes cofacteurs que ceux de l'analyse poolée

initiale (âge, statut tabagique, exposition professionnelle, consommation de café, niveau d'études, consommation totale de liquides).

Les résultats de la méta-régression ne montrent pas d'effet significatif du continent (Europe versus Amérique) (variable indicatrice non significative). Les odds-ratios combinés obtenus au sein des deux types d'études apparaissent en effet comparables (Tableau 43).

Tableau 43. Méta-analyses de l'association (OR* et IC_{95%}) entre le niveau de THM environnemental moyen et risque de cancer de la vessie, études Européennes^a, Nord-Américaines^b et globale – Hommes dont l'exposition aux THMs est connue pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition de 40 ans.

Niveau de THM (µg/L)	Etudes Européennes ^a	Etudes Nord- Américaines ^b	Ensemble
0-5	1	1	1
>5	1,27 (1,03-1,58)	1,34 (1,14-1,56)	1,31 (1,16-1,49)
0-5	1	1	1
>5-25	1,27 (0,95-1,68)	1,24 (1,00-1,53)	1,25 (1,06-1,47)
>25-50	1,46 (0,86-2,46)	1,33 (1,07-1,67)	1,35 (1,09-1,66)
>50	1,47 (1,05-2,05)	1,59 (1,24-2,03)	1,51 (1,26-1,82)
Tendance linéaire (p)	0,01	<0,001	<0,001

* Tous les ORs sont ajustés sur l'âge au diagnostic (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ancien fumeur/fumeur actuel), l'exposition professionnelle (oui/non), la consommation quotidienne de café (<=3 tasses/>3 tasses), le niveau d'études (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L./jour) ;

Pour l'étude française, les ORs sont ajustés en plus sur l'hôpital et la durée d'exposition à de l'eau de surface ozonée (3 catégories); N=522 hommes, dont le niveau d'études est connu.

Pour l'étude finlandaise, aucun ajustement complémentaire; N=1191 hommes.

Pour l'étude espagnole, les ORs sont ajustés de plus sur la zone géographique, le degré d'urbanisation de la commune où l'individu a vécu le plus longtemps avant l'âge de 18 ans, la qualité de l'entretien, la fréquentation de la piscine au cours de la fenêtre d'exposition, la durée moyenne des douches/bains (binaire, seuil=10min/jour); N=1270 hommes dont le statut tabagique est connu.

^a(Koivusalo et al. 1998) ; (Chevrier et al. 2004) ; (Villanueva et al. 2007a)

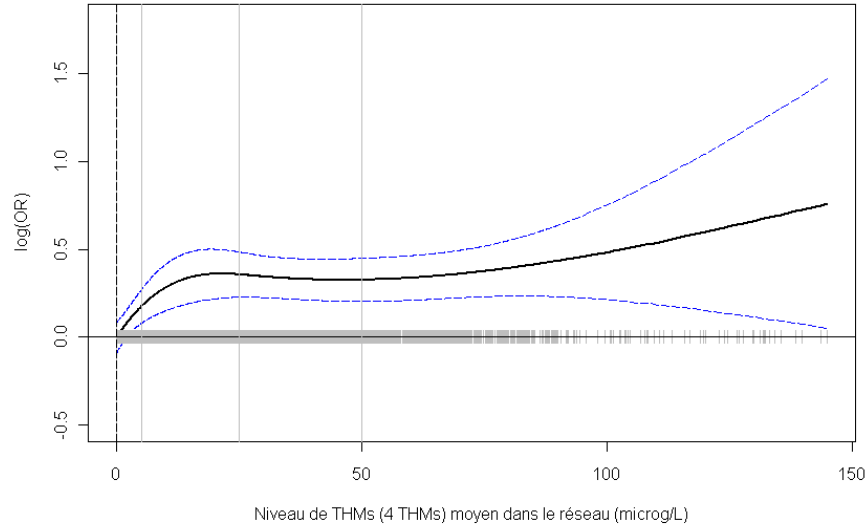
^b (Cantor et al. 1998) ; (Lynch et al. 1989) ; (King and Marrett 1996)

L'absence de réelle spécificité européenne de la relation entre l'exposition environnementale aux THMs et le risque de cancer de la vessie suggère le calcul d'un OR global, prenant en compte les études cas-témoins disponibles à l'heure actuelle, en Europe et en Amérique du Nord. Les ORs globaux (significativement supérieurs à 1 dès une exposition supérieure à 5 µg/L) montrent une relation dose-effet entre le niveau d'exposition environnementale au TTHM et le risque de cancer de la vessie.

Le Tableau 44 compare ces résultats avec ceux de la première analyse poolée de (Villanueva et al. 2004), recalculés en utilisant la catégorie de référence [0-5] µg/L au lieu de [0-1] µg/L (dans la publication). La relation dose-réponse déjà observée est confirmée, avec des valeurs légèrement supérieures, notamment pour les expositions supérieures à 50 µg/L (cependant les intervalles de confiance ne sont pas disjoints), il n'y a donc pas de différence significative. On note aussi que l'analyse portant sur les études européennes présente une relation dose-réponse plus significative après l'intégration de l'analyse espagnole dans notre nouvelle analyse.

Un modèle GAM avec une fonction spline (spline naturelle à 3 degrés de liberté) pour la variable d'exposition permet finalement de visualiser la forme de la relation dose-réponse globale (Figure 16). La courbe indique une relation croissante entre le niveau de TTHM environnemental et le risque de cancer de la vessie chez les hommes. L'augmentation du risque est significative dès une concentration de 5 µg/L, elle présente une sorte de plateau pour des concentrations comprises entre 20 et 50 µg/L et le risque augmente à partir de 50 µg/L. L'OR est de l'ordre de 1,50 pour une exposition de 100 µg/L.

Figure 16. Relation dose-réponse entre l'exposition au TTHM et le risque de cancer de la vessie chez les hommes (données issues de 6 études cas-témoins européennes et nord-américaines, 4351 cas et 7055 témoins *)



Modèle GAM avec une fonction spline naturelle à 3 degrés pour la variable d'exposition, ajusté sur l'âge au diagnostic (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ancien fumeur/fumeur actuel), l'exposition professionnelle (oui/non), la consommation quotidienne de café (≤ 3 tasses/ >3 tasses), le niveau d'études (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L/jour) ; Les petites barres grise sur l'axe des abscisses indiquent le nombre d'observations présentes à chaque niveau de TTHM. Les traits verticaux gris sont positionnés aux bornes utilisées pour définir les bornes des catégories d'exposition du Tableau 44.

**(Cantor et al. 1998), (Lynch et al. 1989), (King and Marrett 1996), (Koivusalo et al. 1998), (Chevrier et al. 2004), (Villanneva et al. 2007a)*

Tableau 44. Comparaison de différentes analyses poolées et méta-analyses de la relation entre l'exposition aux THMs (taux de TTHM résidentiel) et le risque de cancer de la vessie chez les hommes.

Concentration environnementale en TTHM ($\mu\text{g/L}$)	Analyse poolée originale ^a (Villanueva et al. 2004)			Nouvelle méta-analyse ^b		
	Analyse poolée études européennes ^a	Analyse poolée études nord- américaines ^a	Analyse poolée originale ^a	Meta-analyse études européennes ^c	Meta-analyse études nord- américaines ^d	Méta-analyse globale ^e
0-5	1	1	1	1	1	1
>5	1,16 (0,93-1,44)	1,35 (1,16-1,58)	1,30 (1,14-1,47)	1,27 (1,03-1,58)	1,34 (1,14-1,56)	1,31 (1,16-1,49)
0-5	1	1	1	1	1	1
>5-25	1,21 (0,85-1,73)	1,27 (1,04-1,54)	1,24 (1,05-1,47)	1,27 (0,95-1,68)	1,24 (1,00-1,53)	1,25 (1,06-1,47)
>25-50	0,98 (0,70-1,37)	1,36 (1,11-1,66)	1,24 (1,04-1,47)	1,46 (0,86-2,46)	1,33 (1,07-1,67)	1,35 (1,09-1,66)
>50	1,24 (0,95-1,62)	1,50 (1,19-1,90)	1,42 (1,19-1,69)	1,47 (1,05-2,05)	1,59 (1,24-2,03)	1,51 (1,26-1,82)
p-trend (linéaire)	0,07	<0,001	< 0,001	0,01	<0,001	<0,001

^a Analyse poolée originale incluant 2 études des Etats-Unis (Cantor et al. 1998), (Lynch et al. 1989), une du Canada (King and Marrett 1996), 1 de France (Chevrier et al. 2004), 1 de Finlande (Koivusalo et al. 1998), 1 d'Italie (Porru, données non publiées, 2003). Cette analyse a été divisée en deux parties (études européennes versus nord-américaines). OR ajusté sur l'âge au diagnostic (continu), le statut tabagique (non-fumeur/ancien fumeur/fumeur actuel), l'exposition professionnelle (oui/non), la consommation quotidienne de café (≤ 3 tasses/ > 3 tasses), le niveau d'études (5 niveaux), la consommation totale de liquides (variable binaire, seuil=1 L/jour).

^b Méta-analyse avec effets aléatoires. OR des études ajustés sur les mêmes cofacteurs que l'analyse poolée pour l'étude finlandaise ; pour l'étude française, les ORs sont ajustés de surcroît sur l'hôpital (site) et la durée d'exposition à une eau de surface ozonée (3 niveaux); pour l'étude espagnole, les ORs sont ajustés de surcroît sur la zone géographique, le degré d'urbanisation de la commune où l'individu a vécu le plus longtemps avant l'âge de 18 ans, la qualité de l'entretien, la fréquentation de la piscine au cours de la fenêtre d'exposition, la durée moyenne des douches/bains (binaire, seuil=10min/jour).

^c Méta-analyse européenne: (Koivusalo et al. 1998), (Chevrier et al. 2004), (Villanueva et al. 2007a)

^d Méta-analyse Nord-Américaine: (Cantor et al. 1998), (Lynch et al. 1989), (King and Marrett 1996)

^e Méta-analyse globale: (Cantor et al. 1998), (Lynch et al. 1989), (King and Marrett 1996), (Koivusalo et al. 1998), (Chevrier et al. 2004), (Villanueva et al. 2007a)

VI. Discussion

Notre étude permet de confirmer l'existence d'une association entre l'exposition à une eau du robinet chlorée à son domicile et l'augmentation du risque de cancer de la vessie, chez les hommes uniquement. Cette relation n'apparaît pas significativement différente en Europe, par rapport à celle observée en Amérique du Nord, même si l'observation de la valeur des ORs suggère une relation dose-réponse plus marquée pour les études Nord-Américaines (notamment un risque supérieur pour les expositions supérieures à 50 µg/L). Nous avons donc ré-estimé une relation dose-réponse globale incluant au total 4351 cas et 7055 témoins issus des études cas-témoins Européennes et Nord-Américaines disponibles en 2011.

Cette étude présente un certain nombre de points forts, mais aussi de limites dont il faut tenir compte pour en interpréter les résultats et les utiliser.

Existence d'erreurs de classement des expositions liées à la difficile reconstitution de l'exposition au cours de la vie

L'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau est une exposition chronique, à doses relativement faibles et son association avec la survenue d'un cancer de la vessie repose sur l'hypothèse d'une imprégnation régulière de longue durée, sans accumulation au cours du temps. Les études cas-témoins étant par définition rétrospectives quant à la mesure de l'exposition, il est nécessaire de reconstituer a posteriori les différents éléments de cette exposition, à savoir l'histoire résidentielle des individus, les niveaux de THMs présents dans les réseaux (niveaux environnementaux) et les usages de l'eau par les individus.

La reconstitution des niveaux environnementaux de SPCs historiquement présents dans les réseaux d'eau au cours des décennies précédant l'inclusion des individus dans les études (jusque dans les années 1920 pour les individus inclus dans notre analyse) présente une difficulté certaine. Les SPCs n'ayant été identifiés qu'en 1974, ils n'étaient mesurés jusqu'alors ni par les compagnies d'eau, ni par les instances de santé publique des états. Les mesures réglementaires ne sont apparues que progressivement dans les différents pays. Les niveaux historiques de SPCs sont estimés à partir d'éléments décrivant l'évolution des ressources en eau et des stratégies de traitement utilisées et souvent de modélisation. Ces modèles ont tendance à sous-estimer la

variabilité temporelle et spatiale des niveaux d'exposition. L'étude de (Lynch et al. 1989) a mis clairement en évidence l'effet de différentes méthodes de reconstitution des valeurs de THMs dans les réseaux, et donc l'impact majeur de mauvais classements de l'exposition sur les résultats obtenus quant à l'existence même d'une association entre le risque de cancer de la vessie et l'exposition aux THMs. Plus récemment (Amy et al. 2006), un travail de ré-évaluation de l'exposition des individus dans deux autres études cas-témoins antérieures (King and Marrett 1996), (Cantor et al. 1998) a été mené par l'AWWA et l'US-EPA. Une modélisation plus fine des niveaux de THMs dans les réseaux (intégrant plus de prédicteurs dans les modèles) a permis de mettre en évidence des erreurs non-différentielles de classement de l'exposition dans les études initiales et d'identifier des classes d'exposition plus élevée présentant un risque plus élevé de cancer de la vessie.

Les stratégies utilisées pour reconstituer les niveaux de THMs présents dans les réseaux alimentant les domiciles des individus au cours de leur histoire résidentielle ont été différentes dans les trois études que nous avons réunies. Comme dans les autres études, les erreurs de mesure sont probablement non-différentielles dans la mesure où l'extrapolation des mesures s'est faite au niveau de toutes les communes et les cas et les témoins ont été recrutés dans les mêmes bassins de vie. Ce type d'erreurs de mesure non-différentielles a plutôt tendance à biaiser les résultats vers une absence d'association ou une sous-estimation de l'association.

Le caractère rétrospectif des études cas-témoins peut potentiellement entraîner un biais de mémoire concernant les informations sur l'exposition collectées par questionnaire, à savoir ici l'histoire résidentielle, les quantités d'eau du robinet bues aux différentes périodes, le nombre de douches, des bains, la fréquentation de piscine, mais aussi les cofacteurs d'ajustement tels que la consommation de café ou l'exposition professionnelle. Concernant notre problématique, il semble peu probable que les risques sanitaires associés à la consommation de sous-produits de chloration de l'eau aient été connus de la population générale au moment où les études ont été réalisées. Ceci suggère qu'il n'y a pas non plus de différence de déclaration de l'exposition chez les cas atteints de cancer de la vessie et chez les témoins et que ce biais peut être considéré comme non-différentiel.

Investigation de la voie d'exposition (ingestion vs douches et bains)

Le taux moyen de TTHM dans l'eau du robinet est une estimation de l'exposition environnementale aux SPCs qui ne différencie pas les voies d'exposition. Lorsque nous avons utilisé des indicateurs d'exposition tenant compte de la quantité ingérée (quotidiennement, en moyenne ou cumulée sur l'ensemble de la fenêtre d'exposition), nous n'avons pas trouvé d'association avec le risque de cancer. La mesure de l'exposition par ingestion présente une limite importante qui est l'estimation d'une seule consommation quotidienne moyenne pour toute la fenêtre d'exposition (40 ans). Nous n'avons donc pas pu mettre en relation les niveaux de consommation individuelle d'eau du robinet spécifiques à chaque année avec les niveaux de THMs reconstitués pour la même année. Il est fort probable que les pratiques de consommation individuelle ont varié au cours des 40 années, notamment en fonction des caractéristiques (gustatives, olfactives ou de qualité perçue ou réelle) de l'eau du robinet. Or, ces caractéristiques sont en lien direct avec la qualité de l'eau brute et son traitement. La quantité d'eau bue a donc pu varier en fonction des niveaux de THMs présents dans l'eau. La quantité de liquides absorbée par les individus est un facteur de confusion important dans les études sur le cancer de la vessie. En effet, une précédente étude (Michaud et al. 1999) a montré que la quantité de liquide bue (quelle que soit son origine) était un facteur protecteur pour le cancer de la vessie (l'hypothèse étant qu'une miction fréquente limite le temps de contact de la vessie avec des substances cancérigènes). La quantité de THMs ingérée étant liée à la quantité d'eau bue, nous avons effectué une analyse de sensibilité de nos résultats à la présence/absence d'un ajustement sur la quantité de fluides absorbée qui n'a montré aucun impact significatif sur les associations observées.

Seule l'étude espagnole a exploré une autre voie d'exposition que l'ingestion. Les associations présentées dans l'étude initiale ont été retrouvées, après redéfinition de la fenêtre d'exposition. Elles suggèrent que l'exposition par les bains et les douches (inhalation et passage transcutané) est majeure pour prédire le risque de cancer de la vessie. La durée des douches et des bains seule ne montre pas d'association avec le risque de cancer de la vessie. Seule la mesure d'exposition intégrant à la fois la durée et le niveau de THMs dans le réseau montre une association avec le risque de cancer de la vessie (Villanueva et al. 2007a). La fréquentation de la piscine au cours de la vie présente un niveau de risque comparable à celui de l'exposition via les douches et les bains. La prépondérance de cette voie d'exposition est conforme aux résultats d'études toxicologiques sur les composés des THMs (le chloroforme notamment) qui ont montré que les coefficients de passage dans l'organisme étaient plus importants pour les absorptions par le poumon et la peau. Nous avons présenté de façon détaillée ces études dans le premier chapitre

de cette thèse (Chapitre I, partie III.1.3). L'exposition via les poumons et la peau conduisent à des concentrations plus élevées de ces produits dans les organes exposés (la vessie, le rein, le colon) puisque la détoxification opérée par le foie n'intervient pas.

Effet de la durée ou du niveau d'exposition ?

Dans cette étude, il est apparu une corrélation élevée entre la durée d'exposition à une eau chlorée et le niveau de TTHM moyen dans l'eau, les individus les plus longtemps exposés étant aussi ceux qui le sont à des niveaux moyens plus élevés. Ceci s'explique par l'évolution historique des types de traitement de l'eau utilisés: le chlore a d'abord été massivement utilisé en désinfection primaire et secondaire et les méthodes chimiques et mécaniques de prétraitement des eaux brutes permettant de réduire la production de THMs (de SPCs plus généralement) se sont développées au fil des années. Les premières années d'exposition des personnes exposées le plus longtemps correspondent donc à des méthodes de désinfection générant le plus de THMs (chlore seul, en pré-post désinfection).

Nous n'avons donc pas pu clairement statuer sur le poids relatif de ces deux éléments dans l'association avec le risque de cancer de la vessie.

L'étude de (King and Marrett 1996) a exploré l'association du risque de cancer de la vessie avec à la fois la durée et le niveau d'exposition. Elle met en évidence l'importance de la durée d'exposition: à niveau de TTHM environnemental fixé, l'augmentation du risque de cancer n'est significative qu'à partir de 35 années d'exposition et ce, même pour des niveaux de TTHM élevés ($>75 \mu\text{g/L}$). Mais pour une durée d'exposition fixée suffisamment élevée (> 30 années), une relation croissante est observée entre le risque de cancer de la vessie et le niveau environnemental de TTHM. La relation que nous avons observée en étudiant l'effet conjoint de la durée d'exposition et du niveau (Tableau 35) est beaucoup moins claire: des augmentations statistiquement significatives du risque apparaissent dès une durée d'exposition inférieure à 20 ans, pour des niveaux intermédiaires de TTHM et non pour les niveaux les plus élevés de TTHM.

La spécificité masculine

D'après nos résultats, la relation entre les différents indicateurs d'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie n'apparaît que chez les hommes. Cette spécificité a déjà été rapportée dans plusieurs études (Tableau 8). Un nombre plus limité d'études (McGeekin et al.

1993), (Villanueva et al. 2003) ont cependant aussi observé une association chez les femmes (la durée d'exposition à une eau chlorée y est utilisée comme indicateur d'exposition). Les raisons de cette spécificité ne sont à notre connaissance pas documentées dans la littérature et peu d'hypothèses ont été réellement formulées. L'ignorance du mécanisme expliquant cette spécificité est un facteur important de limitation de l'interprétation des résultats par les instances de santé publique nationales et internationales pour statuer quant au caractère carcinogène de l'eau chlorée.

Prédisposition génétique ? L'existence d'une interaction gène-environnement ?

L'hypothèse d'une prédisposition génétique est explorée depuis quelques années afin de comprendre le mécanisme biologique (le mode d'action) qui rendrait plausible un lien de causalité entre l'exposition aux SPCS et le cancer de la vessie. L'association entre le risque de cancer de la vessie et certains polymorphismes génétiques impliqués dans le métabolisme de substances exogènes a été mise en évidence au cours des 20 dernières années dans de nombreuses études rapportées dans une monographie publiée par le Centre International contre le Cancer en 1999 (d'Errico et al. 1999). Le rôle des cytochromes P450, des glutathion S-transférases, des acétyltransférases et des sulfotransférases a été plus particulièrement étudié.

La susceptibilité génétique individuelle à l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau sur le risque de cancer de la vessie a été testée à ce jour dans une seule étude (Cantor et al. 2010), nichée dans l'étude cas-témoins espagnole incluse dans notre analyse poolée (680 cas et 714 témoins pour lesquels le génotype a pu être étudié et l'exposition aux THMs estimée pour au moins 70% de la fenêtre d'exposition). Plusieurs polymorphismes des gènes *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTZ1*, *CYP2E1* potentiellement impliqués dans la voie métabolique des sous-produits de chloration de l'eau ont été explorés :

- le gène *GSTT1* qui code l'enzyme glutathion S-transferase thêta-1 est impliqué dans l'activation en mutagènes des THMs bromés
- le gène *GSTZ1* qui code l'enzyme isomérase maleylacetoacétate catalyse l'oxygénation des acides halo-acétiques (transformation des acides dichloroacétique, bromoacétique et dibromoacétique en acide glyoxylique)
- le cytochrome *P450 2E1* (CYP2E1) est impliqué dans la première oxydation des THMs.

L'étude espagnole montre des modifications d'effets statistiquement significatives entre certains polymorphismes et l'exposition aux THMs (mesurée par le niveau moyen de TTHM dans l'eau du robinet, en µg/L) : l'association entre l'exposition aux THMs et le risque de cancer de la vessie est statistiquement significativement renforcée parmi les individus ayant les génotypes *GSTT1* présent (versus *GSTT1* absent, $p(\text{interaction})=0,021$), *GSTZ1* CT/TT (versus CC, $p(\text{interaction})=0,018$) ou *CYP2E1* CC (versus CT/TT, $p(\text{interaction}) = 0,035$). Une susceptibilité génétique à l'exposition aux THMs caractérisée par la combinaison des polymorphismes *GSTT1* présent et *GSTZ1* CT/TT est observée ($p(\text{interaction})=0,0052$) : les individus porteurs des deux polymorphismes (195 cas / 192 témoins) présentent une relation dose-réponse statistiquement significative entre le risque de cancer de la vessie et l'exposition aux THMs (jusqu'à un OR de 5,9 (1,8-19,0) pour le dernier quartile d'exposition). Les individus *GSTT1* absent et *GSTZ1* CC ou *CYP2E1* CT/TT ne présentent pas de relation dose-réponse significative.

Les résultats de cette première étude viennent conforter l'hypothèse d'un lien de causalité entre l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau et le risque de cancer de la vessie. Les gènes testés influencent le métabolisme de sous-produits appartenant aux deux familles de produits les plus représentées dans le mélange global : les HAAs et les THMs.

Il a été montré que *GSTZ1* permet la transformation des acides dichloroacétique, bromoacétique et dibromoacétique (Board and Anders 2005) et l'on peut supposer que d'autres acides halo-acétiques présents dans le mélange des sous-produits n'ont pas été testés quant à leur cancérogénicité et pourraient aussi être concernés par la métabolisation par le gène *GSTZ1* et participer à l'explication de l'interaction observée.

En ce qui concerne les THMs bromés, des études *in vivo* et *in vitro* ont suggéré un modèle dans lequel, après absorption transcutanée ou inhalation, ils échappent à la première phase de la voie métabolique hépatique et atteignent directement les tissus du système urinaire dans lequel les enzymes *GSTT1* oxydantes sont les plus représentées. Dans la vessie, ceci se traduit par une activation des THMs bromés chez les porteurs du gène *GSTT1*, et donc à un risque supérieur de cancer de la vessie. Il est à noter que 20% des individus de race caucasienne sont porteurs homozygotes de l'absence de gène *GSTT1* (Raimondi et al. 2006).

L'enzyme *CYP2E1* oxyde une large variété d'alcanes, alkènes et hydrocarbures aromatiques et halogénés, famille de produits auxquelles appartiennent certains des nombreux composés des sous-produits de chloration de l'eau, et les active en composés carcinogènes (Bolt et al. 2003). Mais le niveau de cette enzyme est partiellement induit par la consommation d'alcool

et d'autres facteurs alimentaires, qui n'ont pu être contrôlés dans l'étude espagnole (Cantor et al. 2010).

Une analyse poolée versus une méta-analyse

Pour analyser simultanément les trois études cas-témoins européennes, nous avons utilisé deux stratégies statistiques : l'analyse poolée et la méta-analyse. L'analyse poolée présente l'avantage d'accroître a priori la puissance de l'étude en augmentant l'effectif total, mais pose problème lorsque l'hétérogénéité inter-étude est importante.

Les sources possibles d'hétérogénéité peuvent concerner la distribution des niveaux d'exposition et des variables de confusion qui diffèrent d'une étude à l'autre. Certaines variables d'ajustement utilisées dans les études initiales influencent fortement les résultats. C'est le cas de la prise en compte de l'ozonation dans l'étude française par exemple ou de l'urbanité et la qualité de l'entretien dans l'étude espagnole. Nous avons testé la sensibilité des résultats de chacune des 3 études à la présence de certains cofacteurs inclus dans les analyses originales qui ne pouvaient être pris en compte dans l'analyse poolée. Les résultats obtenus se sont révélés sensibles à la présence ou l'absence de ces facteurs. Dans l'analyse poolée, la seule possibilité est d'ajuster sur l'indicatrice de l'étude (en effet aléatoire), mais ceci ne permet pas de compenser le non-ajustement sur des facteurs de confusion spécifiques. Le fait d'utiliser une méta-analyse après ré-analyse des données d'origine afin de les rendre les plus homogènes possibles (en termes de fenêtre d'exposition, bornes des catégories d'exposition et critère d'âge à l'inclusion) et l'ajustement sur les variables de confusion spécifiques ont permis de limiter les biais de confusion. Les odds-ratios estimés dans chaque étude après ajustement sur les cofacteurs importants sont supérieurs à ceux estimés sans ces ajustements, ce qui conduit à des odds-ratios globaux plus élevés qu'avec l'analyse poolée.

Dans l'article méthodologique présentant la méta-analyse en deux étapes (Stukel et al. 2001), des simulations montrent que lorsque les études d'origine ont un effectif important, cette méthode permet d'obtenir à l'aide d'un modèle linéaire généralisé à effets mixtes des estimations peu biaisées et plus précises, alors qu'un modèle de régression logistique à effets fixes sur les données poolées a tendance à sous-estimer les estimateurs des effets et leurs erreurs, lorsqu'il existe de l'hétérogénéité entre les études. Nous pouvons donc penser que son utilisation dans cette analyse nous a permis de limiter ces 2 phénomènes par rapport à une simple analyse poolée.

Mais cette méthode ne résout pas le problème de l'hétérogénéité des niveaux d'exposition dans les études. Par exemple, dans l'étude espagnole, aucun individu n'a une exposition environnementale au TTHM inférieure à 1 µg/L, nous avons donc du redéfinir la catégorie de référence pour l'exposition en utilisant la borne supérieure de 5 µg/L. En effet, lorsque qu'une étude n'est pas du tout représentée dans une catégorie d'exposition, la comparaison des autres catégories d'exposition avec celle-ci compare des individus d'études différentes avec différents facteurs de confusion potentiels, et pas seulement des individus avec des niveaux d'exposition différents. Ceci peut induire une difficulté dans l'interprétation des odds-ratios obtenus.

L'utilisation du TTHM comme mesure d'exposition aux SPCs

Dans les études cas-témoins s'intéressant au cancer de la vessie, l'indicateur d'exposition utilisé repose sur la concentration totale en THMs (somme des 4 sous-produits). Seule l'étude espagnole a estimé des concentrations différenciées par sous-produits. La disponibilité de données sur les différents SPCs dépend fortement des réglementations en vigueur dans les pays et de la mise en place ou non d'un système de surveillance des niveaux dans les réseaux. La composition du mélange de THMs environnementaux n'était pas disponible pour les études française et finlandaise du fait de leur date plus ancienne (1984-1987 pour l'étude française, 1991-1992 pour l'étude finlandaise). L'étude espagnole est plus récente (1998-2001) et a pu intégrer cette information. Mais il s'avère néanmoins compliqué de reconstituer l'évolution de la composition des mélanges sur la période de 40 années précédant le diagnostic ou l'inclusion. Actuellement, une petite partie seulement de l'ensemble des SPCS identifiés fait l'objet d'une réglementation.

On sait aujourd'hui que le total des THMs (TTHM) ne reflète qu'une partie du mélange de substances contenues dans l'eau de boisson suite à son traitement (Richardson et al. 2007) et le TTHM n'est peut-être pas le meilleur proxy de l'exposition aux SPCS, en termes de toxicité (génotoxicité, cytotoxicité ou carcinogénicité). Si les THMs et HAAs sont les familles les plus présentes en quantité, elles ne sont pas les seules à présenter une toxicité et d'autres familles de sous-produits présentent une toxicité comparable voire supérieure. L'étude de (Jeong et al. 2012) menée dans le cadre du projet HiWate sur des échantillons d'eau issus de pays européens montre une corrélation de 0,74 entre la cytotoxicité de l'eau (cytotoxicity potency index) et sa concentration en THMs ($R=0,75$), en halodiacides ($R=0,80$), en haloacides ($R=0,75$), en haloamides ($R=0,68$). Le niveau de corrélation est de 0,82 avec les SPCs iodés, 0,78 avec les SPCs chlorés et 0,68 avec les SPCs bromés. Les corrélations entre les niveaux de THMs et de

HAAAs et les autres SPCs toxiques évoqués ci-dessus ne sont pas très élevées et ne permettent pas de prédire efficacement leur présence à partir des mesures faites sur les produits réglementés (Villanueva et al. 2012). L'étude de (Jeong et al. 2012) ne montre par ailleurs aucune corrélation significative de la teneur en différentes classes de SPCs de l'eau analysée avec la génotoxicité, hormis pour les SPCs chlorés considérés globalement ($R=0,56$; $P=0,07$) et les SPCs iodés considérés globalement ($R=0,53$; $P=0,09$). L'hypothèse formulée par les auteurs est que les agents responsables des dommages sur l'ADN sont probablement des combinaisons de SPCs déjà identifiés ou non encore identifiés, dont les effets combinés (additifs, synergiques, antagonistes ?) n'ont pas encore été étudiés. L'agent ou le mélange spécifiquement responsable de l'accroissement du risque de cancer de la vessie chez les hommes, s'il existe, n'a toujours pas pu être identifié.

Cette étude a permis d'analyser les données épidémiologiques existantes concernant l'association entre l'exposition aux sous-produits de la chloration de l'eau et le risque de cancer de la vessie. L'indicateur d'exposition utilisé est la teneur en THMs dans les réseaux d'eau distribuée (somme des 4 THMs, TTHM) estimée par des reconstitutions historiques basées sur le type d'eau brute utilisé et des traitements mis en œuvre pour la rendre potable. L'analyse globale rassemblant 6 études cas-témoins européennes et américaines a permis de d'estimer une relation dose-réponse entre la teneur en THMs de l'eau distribuée et le risque de cancer de la vessie chez les hommes sur une population conséquente.

En France, ces résultats intéressent l'INVS dans le cadre de son programme de surveillance des risques sanitaires associés à l'eau destinée à la consommation humaine. Deux rapports portant sur l'évaluation des risques sanitaires des SPCs dans l'eau potable en France ont déjà été publiés (Vandentorren et al. 2007) (Mouly et al. 2007) suite aux mesures d'augmentation des niveaux de chlore dans les eaux distribuées (Plan Vigipirate, 2003). Le premier a permis de synthétiser les données toxicologiques disponibles dans la littérature et de définir des valeurs toxicologiques de référence. Le second avait pour objectif d'estimer l'exposition de la population française et d'évaluer le risque sanitaire associé. Or cette évaluation n'a pu se baser sur les résultats des études épidémiologiques disponibles alors dans la littérature (2003) du fait de mesures de l'exposition jugées « trop imprécises » (qualitatives ou semi-quantitatives) ou de résultats « trop fragiles » (« ... la fragilité des résultats épidémiologiques ne permet pas encore leur utilisation dans le cadre d'une évaluation des risques sanitaires ») (Mouly et al. 2007). Nos travaux permettent de répondre à ce manque en proposant une relation dose-réponse établie à

partir des études cas-témoins présentant une meilleure qualité d'estimation de l'exposition. Les travaux d'évaluation du risque de cancer de la vessie se poursuivent donc actuellement à l'INVS sur la base de ces résultats (communication récente de P.Beaudeau, Congrès National Santé Environnement 2011).

CHAPITRE 3

EXPOSITION PRENATALE AUX SOUS-PRODUITS DE CHLORATION DE L'EAU ET ISSUES DE GROSSESSE

I. Les effets de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau en santé reproductive (revue de littérature)

Si les premières études épidémiologiques ont été consacrées à la recherche d'effets carcinogènes de l'exposition aux SPCs, la littérature s'intéressant aux effets sur la santé reproductive s'est développée à partir des années 1990. Le champ d'étude est extrêmement large. Certaines études se sont penchées sur des aspects de fertilité masculine et féminine tels que la durée du cycle menstruel (Windham et al. 2003), la durée de conception (MacLehose et al. 2008), ou la qualité du sperme (Luben et al. 2007), mais le corpus de littérature est essentiellement composé d'études s'intéressant aux effets de l'exposition du fœtus pendant la grossesse sur le déroulement de la grossesse, son issue et la santé du bébé à la naissance.

Les issues de grossesse considérées ont été la durée de gestation et la prématurité, le petit poids de naissance (<2500 g), le petit poids de naissance rapporté à l'âge gestationnel (petit poids pour l'âge gestationnel, la restriction de croissance intra-utérine, le petit poids de naissance à terme), les anomalies congénitales, les avortements spontanés, les morts fœtales. Deux revues de la littérature liées (Graves et al. 2001) ; (Tardiff et al. 2006) ont récapitulé les issues de grossesse étudiées en relation avec l'exposition aux SPCs afin d'établir le niveau de preuve de l'existence ou l'absence d'une association. Le Tableau 45 résume leurs conclusions publiées en 2006.

Certaines anomalies congénitales ont fait l'objet d'un nombre d'études important qui permettent de conclure à l'absence de preuve d'une association avec l'exposition aux SPCs. C'est notamment le cas des anomalies cardiaques et des fentes palatines ou labiales. C'est également le cas pour les avortements spontanés, la prématurité et le petit poids de naissance. Pour d'autres issues de grossesse, les résultats ne convergent pas entre les études ou les associations observées sont relativement faibles, et ne permettent pas de conclure quant à un lien avec l'exposition. C'est le cas du risque de mort fœtale et des anomalies du tube neural (hors spina bifida). En revanche, la restriction de croissance (petit poids de naissance rapporté à l'âge gestationnel) apparaît comme l'issue de grossesse associée de manière répétée dans de nombreuses études à l'exposition aux SPCs.

Tableau 45. Associations mises en évidence entre les issues de grossesse et l'exposition aux SPCs (nombre d'études étudiant l'association ou l'absence d'association), d'après (Tardiff et al. 2006)

Aucune association démontrée	Résultats divergents ou associations faibles	Associations positives suggérées
Petit poids de naissance (8) Très petit poids de naissance (4) <u>Prématurité (14)</u> Césarienne (1) Spina Bifida (4) Hydrocéphalie (2) Anencéphalie (2) Fentes labiales et palatines (8) Anomalies cardiaques (8) Anomalies gastro-intestinales (1) Anomalies génitales (1) Anomalies du tégument (1) Anomalies musculo-squelettiques (1) Mort néonatale (2) Avortements spontanés (5)	Jaunisse néonatale (1) Toutes anomalies congénitales (4) Anomalies du système nerveux central (2) Anomalies du tube neural (8) Anomalies respiratoires (3) Anomalies du tractus urinaire (3) Anomalies chromosomiques (3) Mort fœtale (6)	<u>RCIU ou Petit poids pour l'âge gestationnel (12)</u> Retard de croissance (dont petit poids de naissance à terme) (5) Petite taille de naissance et petit périmètre crânien (2)

La prématurité et le retard de croissance intra-utérin sont les issues de grossesse qui ont fait l'objet du plus grand nombre d'études. Ce sont les issues de grossesse auxquelles nous allons nous intéresser plus particulièrement et pour lesquelles nous présentons ci-dessous une revue détaillée des méthodes utilisées et des résultats observés jusqu'en 2011 (date à laquelle nous travaillions à la publication de nos propres résultats). La littérature postérieure à notre étude sera évoquée dans la discussion des résultats.

Les études explorant le lien entre croissance fœtale, prématurité et exposition aux SPCs

Au cours des 20 dernières années, on recense une vingtaine d'études s'intéressant à la relation entre l'exposition prénatale aux SPCs et le retard de croissance intra-utérin au sens large (incluant le petit poids de naissance ou le petit poids de naissance par rapport à l'âge gestationnel). Dans la suite de cette revue, nous nous limiterons aux études mesurant le retard de croissance par le petit poids de naissance rapporté à l'âge gestationnel (« small for gestational age », SGA) ou par la restriction de croissance intra-utérine (RCIU), qui est une mesure tenant compte

du potentiel de croissance lié aux caractéristiques morphologiques parentales. Nous en avons recensé 13 jusqu'en 2010, 4 en 2011 et 3 en 2012. En ce qui concerne la prématurité, nous avons recensé 14 études publiées jusqu'en 2010, 3 en 2011 (dont 10 études déjà citées pour étudier le retard de croissance). Notre revue comporte donc 24 études publiées entre 1992 et 2011, dont 7 ne concernent que la prématurité, 7 seulement le retard de croissance et 10 les deux issues de grossesse.

Les designs utilisés sont majoritairement des études de cohorte rétrospectives, basées sur les registres des naissances d'une ou plusieurs régions desservies par un ou plusieurs réseaux d'eau (15 études). On compte également 6 études de cohorte prospectives et seulement 3 études cas-témoins.

Pour définir le retard de croissance, la très grande majorité des études utilisent des courbes de référence nationales ou spécifiques à la région de l'étude. Ces courbes de référence décrivent la distribution des poids de naissance en fonction de l'âge gestationnel et du sexe de l'enfant, certaines tiennent aussi compte de l'origine ethnique. Au sens strict, toutes les études s'intéressent donc au petit poids de naissance rapporté à l'âge gestationnel et aucune à la RCIU. Le 10^{ème} percentile est le seuil utilisé par une très grande majorité (14 études) pour définir le retard de croissance, 2 études seulement utilisent le seuil de 5% (Bove et al. 1995) ; (Kramer et al. 1992). Une étude (Kallen and Robert 2000) utilise le seuil de - 2 écart-types du poids moyen attendu, ce qui dans le cas d'une distribution gaussienne correspond à un seuil de 2,5%.

Pour définir la prématurité, les études diffèrent peu, le seuil de 37 semaines d'aménorrhée étant universellement adopté. Certaines études précisent un seuil à 37 semaines révolues (complètes), d'autres ne le précisent pas. La façon dont l'âge gestationnel est estimé n'est pas précisée dans toutes les études. Les études de cohorte rétrospectives utilisant les données des registres des naissances, l'âge gestationnel y est déterminé à la naissance par l'équipe médicale à partir du dossier de la patiente. Les études prospectives de cohorte permettent un accès aux dates des dernières règles déclarées par la femme enceinte et à l'âge gestationnel enregistré par l'équipe médicale à la naissance, mais cet aspect est peu discuté.

Les études diffèrent selon la mesure de l'exposition aux SPCs qu'elles utilisent. Certaines utilisent une mesure qualitative de l'exposition et comparent simplement les résidences maternelles selon le type d'eau (chlorée ou non) qui alimente le réseau correspondant. D'autres utilisent des niveaux quantifiés d'exposition. Ces mesures de la quantité de SPCs dans l'eau du robinet au cours de la grossesse peuvent être plus ou moins précises, de l'utilisation de données réglementaires de surveillance de l'eau à la collecte des niveaux réellement présents au robinet des

femmes enceintes pendant leur grossesse. Certaines études vont jusqu'à estimer la dose interne de SPCs liée aux usages de l'eau par la femme enceinte au cours de la grossesse. Nous avons donc organisé la revue ci-dessous selon les méthodes d'estimation de l'exposition utilisées. Les études sont résumées dans le Tableau 46 (étude de la prématurité) et le Tableau 47 (étude du retard de croissance).

I.1 Les études reposant sur une mesure qualitative de l'exposition

Cinq études ont utilisé une mesure qualitative de l'exposition aux SPCs (Kanitz et al. 1996) ; (Jaakkola et al. 2001) ; (Kallen and Robert 2000) ; (Yang et al. 2000) ; (Yang 2004).

L'étude de (Kanitz et al. 1996) a comparé les naissances dans 2 hôpitaux, l'un appartenant à une région dans laquelle l'eau n'est pas désinfectée, l'autre à une région où l'eau est désinfectée par du dioxyde de chlore, de l'hypochlorite de sodium ou par les deux. Cette étude ne met en évidence aucune association entre la désinfection de l'eau (quel que soit le désinfectant) et les risques de prématurité et de petit poids de naissance sans prise en compte de l'âge gestationnel.

L'étude de (Jaakkola et al. 2001) s'est basée sur le registre des naissances norvégien (années 1993-1995) et les informations obtenues auprès des municipalités de résidence des femmes à la naissance quant au traitement de l'eau distribuée dans les réseaux (chloration versus non-chloration) et la quantité de MON présente dans l'eau brute (2 intensités de chloration de l'eau). Quatre catégories d'alimentation en eau ont ainsi été définies et comparées selon le risque de retard de croissance et de prématurité. Aucune association n'a été mise en évidence entre l'exposition et les différentes issues de grossesse (dont la restriction de croissance, le petit poids naissance et la prématurité).

L'étude suédoise de (Kallen and Robert 2000) a comparé les issues de grossesse de mères habitant des zones alimentées en eau non chlorée, en eau désinfectée au dioxyde de chlore ou à l'hypochlorite de sodium (3 groupes comparés). Aucune association n'est trouvée avec le retard de croissance, mais un sur-risque de prématurité apparaît pour les femmes exposées à une eau désinfectée à l'hypochlorite de sodium (OR=1,09 (1,01-1,17)) par rapport aux femmes non-exposées à une eau désinfectée.

L'étude de (Yang et al. 2000), menée à Taïwan sur la base des registres des naissances, a identifié les résidences maternelles situées dans des municipalités dont plus de 90% de la population était desservie par de l'eau chlorée ou dans des municipalités dont moins de 5% était

desservie par de l'eau chlorée. Aucune association n'est montrée avec le petit poids de naissance (<2500g) à terme, mais un sur-risque de prématurité apparaît pour les naissances au sein de municipalités desservies par de l'eau chlorée (OR=1,34 (1,15-1,56)). C-Y. Yang a reproduit une étude sur une population de Taiwan plus importante (Yang 2004), avec la même mesure d'exposition qui a confirmé un sur-risque de prématurité pour les femmes habitant une municipalité desservie par de l'eau chlorée (OR=1,37 (1,20-1,56)).

Ces 5 études de type semi-écologique intègrent des facteurs d'ajustement disponibles dans les registres des naissances (âge maternel, parité, niveau socio-économique, niveau d'études, tabagisme). Aucune ne permet de conclure à une association entre le risque de retard de croissance intra-utérin et l'exposition à une eau chlorée. Trois concluent à une association entre le risque de prématurité et l'exposition à de l'eau chlorée ou traitée à l'hypochlorite de sodium.

I.2 Les études reposant sur des mesures de SPCs dans les réseaux

Les mesures de SPCs sur les réseaux d'eau peuvent être de 2 sortes : des mesures faites réglementairement par les municipalités ou les distributeurs dans le cadre de la surveillance sanitaire ou des mesures mises en place ad hoc pour les besoins de l'étude.

I.2.1 L'utilisation de données réglementaires

Douze études (sur 24) sur la prématurité et/ou la RCIU basent leur mesure d'exposition sur des données réglementaires collectées au niveau des réseaux de distribution (Kramer et al. 1992), (Bove et al. 1995), (Dodds et al. 1999), (Wright et al. 2003), (Wright et al. 2004), (Porter et al. 2005), (Hinckley et al. 2005b), (Yang et al. 2007), (Infante-Rivard 2004), (Savitz et al. 1995), (Lewis et al. 2007), (Gallagher et al. 1998). Le réseau d'eau desservant le domicile est identifié à l'aide de l'adresse déclarée par la maman à la naissance. Les mesures de SPCs collectées pour des raisons réglementaires par les municipalités et les entreprises de distribution de l'eau en certains points de surveillance sur ces réseaux sont utilisées pour estimer l'exposition maternelle. La réglementation des SPCs s'étant focalisée historiquement sur les THMs, ce sont les produits les plus souvent mesurés dans les réseaux et collectés dans les bases de données municipales et des distributeurs d'eau. La première étude publiée (Kramer et al. 1992) n'utilise que les niveaux de chloroforme, mais toutes les autres études utilisent les THMs (séparément ou leur somme TTHM) comme proxy d'exposition aux SPCs. Nous verrons plus loin que 6 d'entre elles mesurent aussi les HAAs. La fréquence de surveillance des réseaux est variable selon les études et

les pays dans lesquels elles se déroulent. Des données trimestrielles sont la situation la plus fréquente. Les exceptions sont l'étude de (Porter et al. 2005) qui a disposé de données mensuelles et une étude, réalisée sur un réseau unique qui a disposé de données hebdomadaires (Lewis et al. 2006). Généralement, les niveaux des THMs (en $\mu\text{g/L}$ ou en ppb) estimés à la date la plus proche de la grossesse ou du trimestre de grossesse ont été utilisés comme niveau d'exposition. Dans toutes les études, les périodes de mesure de la base réglementaire coïncident avec les périodes des grossesses étudiées, mais il peut exister un décalage comme dans l'étude de (Kramer et al. 1992) où les mesures datent de 2 ans avant la période de l'étude.

Dans 3 études, les auteurs ont essayé d'améliorer l'estimation de l'exposition des femmes en utilisant des modèles visant à compléter les données réglementaires pour les dates auxquelles aucune mesure n'était disponible. L'étude de (Dodds et al. 1999) utilise des données réglementaires avec 3 points de mesure par réseau, prélevés 4 fois par an, de manière irrégulière. Les valeurs manquantes mensuelles ont été imputées par régression linéaire. Dans une situation comparable, l'étude de (Hinckley et al. 2005b) a utilisé des régressions splines. L'étude de (Gallagher et al. 1998) a tenu compte du positionnement de la femme enceinte sur le réseau d'eau en utilisant des modèles hydrauliques.

1.2.2 L'utilisation de données collectées ad-hoc

Sept études au total ont mis en place des mesures spécifiques de SPCs dans les réseaux desservant les domiciles des femmes incluses (Horton et al. 2011), (Aggazzotti et al. 2004), (Hoffman et al. 2008a; Hoffman et al. 2008b), (Villanueva et al. 2011), (Grazuleviciene et al. 2011), (Patelarou et al. 2011). A l'exception de celle de (Horton et al. 2011), ce sont toutes des études de cohorte prospectives. Pour l'une d'elles (Aggazzotti et al. 2004), les mesures ont été faites au domicile même des femmes, quelques jours après la naissance. Pour les autres, des points stratégiques sur les réseaux ont été utilisés pour refléter au mieux les niveaux de SPCs.

1.2.3 Résultats des études basées sur des mesures environnementales de SPCs

- **Le retard de croissance intra-utérin**

Parmi les 12 études utilisant une mesure d'exposition environnementale quantifiée aux SPCs, 6 études montrent une association entre l'exposition à des niveaux élevés de TTHM, de CLF ou de BDCM et le risque de retard de croissance (Kramer et al. 1992), (Bove et al. 1995), (Wright et al. 2003), (Wright et al. 2004), (Hinckley et al. 2005b), (Hoffman et al. 2008b). En revanche, 6 études ne montrent pas d'association (Aggazzotti et al. 2004), (Dodds et al. 1999), (Porter et al. 2005), (Yang et al. 2007), (Horton et al. 2011), (Patelarou et al. 2011). Mais sur ces 6 études, 3 ont été réalisées dans des régions dans lesquelles les concentrations de l'eau de distribution en THMs sont très faibles : dans l'étude de (Patelarou et al. 2011), le 3^{ème} tercile de la distribution des THMs bromés est de 8 µg/L; dans l'étude de (Aggazzotti et al. 2004), le niveau médian du TTHM est de 1,1 µg/L et dans celle de (Yang et al. 2007), la catégorie d'exposition la plus élevée correspond à des niveaux supérieurs à 13,1 µg/L seulement. Ces niveaux d'exposition correspondent à la catégorie de référence des autres études.

Nous décrivons ci-dessous plus en détails les résultats des études montrant une association.

L'étude cas-témoins de (Kramer et al. 1992) montre un sur-risque de retard de croissance (défini au 5^{ème} percentile) pour une exposition à une eau contenant plus de 10 µg/L de chloroforme (OR=1,8 (1,1-2,9)) au cours de la grossesse. L'étude de (Bove et al. 1995) observe un sur-risque pour une exposition moyenne au cours de la grossesse supérieure à 40 ppb avec une relation dose-réponse croissante (OR=1,50 (1,15-1,96) pour une exposition > 100 ppb versus ≤20ppb). (Wright et al. 2004) montre un sur-risque pour une exposition au cours du 3^{ème} trimestre supérieure à 33 µg/L pour le TTHM, mais aussi pour une exposition supérieure à 26 µg/L pour le CLF et à 5 µg/L pour le BDCM. Les OR significatifs obtenus pour les expositions les plus élevées sont de l'ordre de 1,11 à 1,15. L'étude de (Hinckley et al. 2005b) a aussi observé une augmentation du risque pour une exposition au 3^{ème} trimestre supérieure à 53 µg/L (comparée à ≤40 µg/L) de l'ordre de 10% pour le TTHM. Les concentrations de l'eau en THMs individuels ne sont pas significativement associées au risque de retard de croissance. L'étude de (Hoffman et al. 2008b) ne montre pas de relation dose-réponse très claire entre l'exposition au TTHM environnemental et le risque de retard de croissance, mais l'exposition à un niveau de TTHM supérieur à 80 µg/L est associé à un sur-risque significatif de retard de croissance (RR=2,0 (1,1-3,6)).

- **La prématurité**

Parmi les 11 études présentant des résultats d'association entre le niveau de THMs dans les réseaux et le risque de prématurité, seules 3 obtiennent des résultats significatifs. L'étude de (Hoffman et al. 2008a) montre que le risque de prématurité décroît avec le niveau de TTHM dans les réseaux au 2^{ème} trimestre de grossesse (RR=0,5 (0,3-0,9) pour les femmes exposées à une concentration de TTHM supérieure à 74,9 µg/L). Le risque relatif associé à une augmentation de 10 µg/L est de 0,95 (0,91-1,00). Une étude fine du risque d'accouchement conditionnel à chaque semaine de grossesse permet d'identifier une fenêtre d'exposition (entre les semaines 33 et 40) pour laquelle une réduction du risque de prématurité semble associée à une forte exposition aux THMs. La deuxième étude (Lewis et al. 2007) montrant une association entre prématurité et exposition aux THMs conclut dans le même sens : une décroissance du risque de prématurité apparaît pour une exposition au deuxième trimestre de grossesse supérieure à 40 µg/L, et pour une exposition sur la grossesse entière supérieure à 60 µg/L (HR=0,81 (0,67-0,99)). La troisième étude (Wright et al. 2004) est convergente : une diminution du risque de prématurité est observée pour une exposition au cours du 3^{ème} trimestre supérieure à 33 µg/L pour le TTHM, 26 µg/L pour le chloroforme et 5 µg/L pour le BDCM. Une relation dose-réponse avec l'âge gestationnel est par ailleurs identifiée. On remarque que les résultats obtenus dans ces études divergent de ceux obtenus dans les études utilisant une mesure qualitative de l'exposition.

I.3 Les études intégrant des usages individuels de l'eau

Dans 8 études seulement (sur 24), les usages de l'eau par les femmes enceintes pendant leur grossesse ont été intégrés dans la mesure d'exposition, afin d'obtenir une mesure individuelle (Savitz et al. 1995), (Infante-Rivard 2004), (Hoffman et al. 2008a), (Hoffman et al. 2008b), (Aggazzotti et al. 2004), (Villanueva et al. 2011), (Patelarou et al. 2011), (Grazuleviciene et al. 2011).

Ces études sont des études cas-témoins ou des cohortes prospectives qui permettent de collecter ces informations par questionnaire. Les trois voies d'exposition considérées sont l'ingestion d'eau du robinet, les douches et les bains et la baignade en piscine. Le fait de faire chauffer l'eau pour préparer des boissons chaudes ou d'utiliser des filtres est pris en compte dans l'estimation de la quantité de THMs en appliquant des coefficients correcteurs (issus de la littérature que nous avons évoquée dans le Chapitre I, Partie III.1.1 sur les déterminants de l'exposition aux SPCS par ingestion). La première étude ne tient compte que de l'ingestion et

considère simplement le nombre de verres d'eau du robinet consommés par jour, pondéré par le niveau de TTHM dans le réseau. L'étude de (Aggazzotti et al. 2004) crée des catégories d'exposition croisant le niveau dans le réseau et la quantité consommée (boit/ ne boit pas d'eau du robinet ; 2 niveaux d'inhalation par les douches). Les autres études intègrent les autres voies d'exposition et vont jusqu'à estimer des doses internes de THMs (exprimées en $\mu\text{g}/\text{jour}$), spécifiques aux voies d'exposition à l'aide de coefficients de passage dans l'organisme issus de la littérature toxicologique (Chapitre I, Partie III.1.1.).

Sur les 8 études, deux ne présentent pas de résultats quantitatifs concernant l'association entre la dose interne estimée de THMs et le risque de restriction de croissance ou de prématurité (Aggazzotti et al. 2004), (Infante-Rivard 2004). Sur les 6 études restantes, une seule (Hoffman et al. 2008b) montre une association entre une dose interne élevée de TTHM ($>1,6 \mu\text{g}/\text{jour}$) provenant des douches et des bains au 3^{ème} trimestre et le risque de restriction de croissance ($\text{RR}=1,6$ (1,0-2,7) par comparaison avec une dose inférieure à $0,09 \mu\text{g}/\text{jour}$). Les autres études ne montrent aucune association entre les doses internes de THMs et les risques de prématurité et/ou de restriction de croissance.

Pour 4 études, il est possible de comparer les résultats obtenus en utilisant ce degré de précision dans l'estimation de l'exposition avec ceux obtenus en utilisant une mesure d'exposition environnementale : Dans l'étude de (Savitz et al. 1995), l'absence d'association avec le risque de prématurité demeure après prise en compte de l'ingestion. L'étude de (Hoffman et al. 2008b) montrait un excès de risque de restriction de croissance associé à un niveau de TTHM environnemental supérieur à $80 \mu\text{L}/\text{L}$. Cette association est confirmée en utilisant la dose interne de TTHM due aux douches. L'étude de (Hoffman et al. 2008a) sur le risque de prématurité ne montre aucun effet de la dose interne de TTHM via les douches, contrairement au niveau environnemental de TTHM, pour lequel une réduction du risque avait été identifiée pour les plus fortes expositions. Dans l'étude de (Patelarou et al. 2011), les mesures d'association obtenues en utilisant la dose interne totale de THMs bromés sont très proches de ceux obtenus avec la mesure environnementale de THMs bromés. Dans les deux cas, aucune association n'est montrée avec la prématurité et la restriction de croissance.

En résumé, l'intégration des usages personnels de l'eau par les femmes enceintes dans l'estimation de l'exposition ne semble pas modifier les résultats observés lorsque la seule

exposition environnementale (concentrations de THMs dans les réseaux alimentant le domicile des femmes) est utilisée. Les études intégrant les usages personnels de l'eau concluent plutôt à une absence d'association, mais c'est aussi le cas lorsque la seule mesure environnementale de l'exposition est utilisée.

I.4 Les études intégrant l'exposition aux autres SPCs que les THMs

Six études disposent aussi de mesures de HAAs dans l'eau distribuée (Wright et al. 2004), (Hinckley et al. 2005b), (Porter et al. 2005), (Hoffman et al. 2008a; Hoffman et al. 2008b), (Horton et al. 2011). Seules les 3 premières utilisent des données réglementaires, les 3 autres utilisent des prélèvements organisés ad-hoc pour l'étude. Cinq études concernent la restriction de croissance, une seule la prématurité (Hoffman et al. 2008a). Celle-ci montre une réduction du risque de prématurité pour des niveaux intermédiaires de HAAs dans les réseaux au 2^{ème} trimestre (RR=0,5 (0,3-0,8) pour une exposition de 31,6 à 10,4 µg/L comparée à une exposition inférieure à 0,9 µg/L) mais la relation dose-réponse n'est pas clairement établie. Une réduction du risque est aussi observée pour les valeurs les plus élevées de HAAs ingérés (RR=0,6 (0,4-0,9)). Cet effet était aussi observé avec l'exposition aux THMs.

En ce qui concerne la restriction de croissance, parmi les 5 études considérant l'exposition aux HAAs, 3 d'entre elles observent une association avec le risque de RCIU (Porter et al. 2005), (Hinckley et al. 2005b) et (Wright et al. 2004), mais les 2 autres ne retrouvent pas cette association (Hoffman et al. 2008b), (Horton et al. 2011).

L'étude de (Porter et al. 2005) identifie des ORs significativement supérieurs à 1 pour des quintiles d'exposition aux HAAs environnementaux intermédiaires (2^{ème} et 3^{ème} quintiles). La relation dose-réponse n'apparaît pas clairement et les auteurs ne concluent pas à l'existence d'une association. Aucune relation n'avait été mise en évidence pour l'exposition environnementale aux THMs. Aucune donnée sur les usages de l'eau n'était disponible.

L'étude de (Hinckley et al. 2005b) observe une augmentation du risque de restriction de croissance associée à des concentrations environnementales de TCAA et DCAA supérieures à 6 et 8 µg/L respectivement. Les OR estimés sont de l'ordre de 1,2 pour le TCAA et de 1,3 pour le DCAA. Une augmentation du risque était aussi observée pour une exposition environnementale au TTHM supérieure à 53 µg/L, avec une intensité plus faible (OR de l'ordre de 1,1). Cette étude n'intègre pas de données sur les usages de l'eau.

L'étude de (Wright et al. 2004) montre une diminution significative du risque de restriction de croissance pour des niveaux intermédiaires de TCAA et de DCAA dans les réseaux (OR=0,87 et 0,86 respectivement). Les OR des catégories les plus exposées ne sont pas significatifs. Ces résultats divergent avec ceux observés pour l'exposition aux THMs, puisqu'un risque de restriction de croissance significativement croissant est mis en évidence pour l'exposition aux THMs (TTHM, CLF et BDCM), avec une relation dose-réponse cohérente.

L'étude de (Hoffman et al. 2008b) ne montre aucune association entre la restriction de croissance et l'exposition aux HAAs, que ce soit au niveau environnemental ou en tenant compte de la dose interne due à l'ingestion. Une association avait été mise en évidence avec les niveaux de TTHM environnementaux et la dose interne liée aux bains et douches.

L'étude de (Horton et al. 2011) ne montre pas d'association entre les niveaux environnementaux de HAAs et les risques de RCIU et de prématurité. Il en est de même pour les niveaux de THMs.

En résumé, les résultats des études s'intéressant à l'exposition aux HAAs ne permettent pas d'établir l'existence d'une association avec le risque de restriction de croissance. Lorsqu'une association apparaît, elle est positive dans 2 cas sur 3 et négative dans l'autre cas. Dans tous les cas aucune relation dose-réponse claire n'est réellement mise en évidence. En ce qui concerne le risque de prématurité, une seule étude le relie à l'exposition aux HAAs et montre un risque diminué cohérent avec celui observé pour l'exposition aux THMs.

I.5 Une étude intégrant une interaction gène-environnement

La seule étude incluant des caractéristiques génétiques (Infante-Rivard 2004) montre un rôle de l'exposition à des valeurs élevées de TTHM (>90^{ème} percentile versus ≤90^{ème} percentile) sur le risque de restriction de croissance possiblement modifié par la présence ou non du variant *CYP2E1*5* du gène: l'exposition à des niveaux élevés de TTHM est associée à un risque élevé de restriction de croissance (OR=13,2 (1,19-146,72)) chez les nouveaux-nés porteurs du variant alors qu'aucun risque n'est observé chez les nouveaux-nés non porteurs du variant. Aucune modification d'effet (ou "interaction gène-environnement") n'est observée lorsque l'on considère le gène de la mère pour ce variant.

I.6 Une méta-analyse

Une revue systématique des études mettant en relation l'exposition prénatale aux SPCs et la prématurité et la croissance fœtale a été publiée récemment par (Grellier et al. 2010). En ce qui concerne la restriction de croissance, 6 études ont été incluses dans la méta-analyse pour estimer un indice d'association global. L'exposition y est mesurée par le niveau de TTHM dans les réseaux d'eau. L'OR combiné associé à une augmentation de 10 µg/L est de 1,01 (1,001-1,019). Pour ce qui est de la prématurité, 6 études ont été incluses dans le calcul d'un OR combiné estimé à 0,99 (0,978-1,001) pour une augmentation de 10 µg/L du TTHM dans l'eau du robinet. Les OR combinés associés aux deux issues de grossesse sont extrêmement proches de 1, ce qui suggère une association très ténue entre l'exposition aux THMs dans les réseaux d'eau et le risque de restriction de croissance ou de prématurité, si elle existe.

La revue de la littérature épidémiologique disponible indique donc que la relation entre l'exposition aux SPCS, mesurée par les THMs et les HAAs et le risque de restriction de croissance n'est pas clairement établie. Les effets observés sont ténus et les imprécisions de mesure de l'exposition propres à chaque étude sont susceptibles d'expliquer les divergences observées. En ce qui concerne la prématurité, le nombre d'études montrant une association avec l'exposition est plus réduit et celle-ci indique plutôt une réduction du risque.

Nous allons maintenant présenter l'étude que nous avons menée au sein de la cohorte PELAGIE, avec une attention particulière sur la mesure de l'exposition aux SPCs.

Tableau 46. Etudes associant l'exposition prénatale aux SPCs et le risque de prématurité (1996-2012)

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Kanitz et al. 1996)	1988-1989, Italie	Cohorte rétrospective, 2 hôpitaux N=676	N=50	Grossesse entière	Type de désinfectant	Non	-	Régression logistique, OR ajustés sur niveau d'études, revenu, âge maternel, tabac, sexe	Pas de désinfection ClO ₂ NaClO ClO ₂ + NaClO	1 1,8 (0,7-4,7) 1,1 (0,3-3,7) 1,8 (0,6-5,0)
(Kallen and Robert 2000)	1985-1994, Suède	Cohorte rétrospective, registres des naissances, N=115 801	N= ?	Grossesse entière	Type de désinfectant	Non	-	Analyses stratifiées (Mantel-Haenszel) sur année de naissance, âge maternel, parité, niveau d'études, tabac	Pas de désinfection ClO ₂ NaClO	1 0,96 (0,88-1,04) 1,09 (1,01-1,17)
(Jaakkola et al. 2001)	1993-1995, Norvège	Cohorte rétrospective, registres des naissances N=137 145	N=7886	Grossesse entière	Type d'eau et de désinfectant	Non	-	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, parité, rang de naissance, caractéristiques socio-économique de la zone de résidence	Pas chloration, peu de MON Pas chloration, bcp de MON Chloration, peu de MON Chloration, bcp de MON	1 0,92 (0,83-1,03) 0,95 (0,88-1,03) 0,91 (0,84-0,99)
(Yang et al. 2000)	1994-1996, Taiwan	Cohorte rétrospective, registres des naissances N=18 025 1 ^{ères} naissances uniques vivantes	N=719	Grossesse entière	Municipalités avec >90% de la population desservie par eau chlorée versus municipalités avec <5% pop desservie par eau chlorée	Non	-	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, statut marital, niveau d'études, sexe	Non-chloration Chloration	1 1,34 (1,15-1,56)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Yang 2004)	1994-1996, Taiwan	Cohorte rétrospective, registres des naissances N=182 796 1 ^{ères} naissances uniques primipares	N=80 030	Grossesse entière	Municipalités avec >90% de la population desservie par eau chlorée versus municipalités avec <5% pop desservie par eau chlorée	Non	-	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, statut marital, niveau d'études, sexe, urbanicité	Non-chloration Chloration	1 1,37 (1,20-1,56)
(Savitz et al. 1995)	1998-1991, Caroline du Nord, Alamance County	Cas-témoins, ratio 1 :1, témoin = naissance suivant un cas, même hôpital, même race, né à terme et poids normal N=455 témoins	N=244	28 ^{ème} semaine d'aménorrhée	Base de données réglementaire, données trimestrielles	Oui Ingestion	TTHM	Régression logistique, OR ajustés si nécessaire sur âge maternel, race, hôpital, niveau d'études, statut marital, tabac et alcool, emploi, nausées, niveau de pauvreté	Source d'eau Puits privé Réseau public Bouteille TTHM réseau (ppb) 40,8-63,3 63,4-82,7 82,8-168,8 Δ 50 ppb TTHM ingérés Ppb/verres/jour 44,0-169,9 170,0-330,8 330,9-1171,0 Δ 250	1 0,9 (0,7-1,2) 0,8 (0,4-1,4) 1 1,2 (0,8-1,8) 0,9 (0,6-1,5) 0,8 (0,6-1,2) 1 1,2 (0,8-1,7) 0,9 (0,6-1,3) 0,9 (0,8-1,1)
(Gallagher et al. 1998)	1998-1993, Colorado, USA, 2 régions hydrauliques	Cohorte rétrospective, Registre des naissances N=1893 naissances vivantes uniques, blanches	N=68	3 ^{ème} trimestre	Mesures réglementaires + modélisation hydraulique	Non	TTHM			

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Dodds et al. 1999)	1988-1995, Nova Scotia, Canada	Cohorte rétrospective N=93 295 naissances uniques	N= 2689	3 ^{ème} trimestre	Base de données réglementaire, 3 points de mesure/réseau, 4 prélèvements/an, modélisation des données manquantes (régression linéaire)	Non	TTHM	Régression de poisson, RR ajustés	0-49 µg/L 50-74 75-99 ≥100	1 0,96 (0,88-1,06) 0,99 (0,88-1,12) 0,97 (0,87-1,09)
(Wright et al. 2004)	1995-1998, Massachusetts, communautés > 10 000 hab	Cohorte rétrospective N=196 000	N= 11 580	3 ^{ème} trimestre	Base de données réglementaire, 1995-1998 pour les THMs, 1997-1998 pour HAAs, mesures ad-hoc pour MX et mutagénicité	Non	TTHM HAAs TCAA, DCAA, MX	Régression logistique, OR ajustés sur niveau de revenu médian de la zone d'habitation, suivi de la grossesse, race, niveau d'études, âge maternel, parité, tabac, antécédent de PN>4000g, de prématurité et pathologies de la grossesse	TTHM 0-33 µg/L 33-74 >74-163 CLF 0-26 µg/L 26-63 >63-135 BDCM 0-5 µg/L 5-13 >13-46 TCAA 0-18 µg/L 18-27 >27-37 DCAA 2-15 µg/L 15-22 >22-24 HAAs 4-30 µg/L 30-49 >49-58	1 0,95 (0,91-0,99) 0,88 (0,81-0,94) 1 0,95 (0,91-0,99) 0,90 (0,84-0,97) 1 0,89 (0,85-0,93) 0,92 (0,85-0,99) 1 0,91 (0,77-1,07) 1,07 (0,81-1,42) 1 0,85 (0,71-1,01) 0,99 (0,79-1,23) 1 0,95 (0,83-1,10) 1,03 (0,77-1,39)
(Aggazzotti et al. 2004)	1999-2000, Italie, 9 villes,	Cohorte prospective, N=1196, Cas-témoins	N=343 cas, N=612 témoins appariés sur AG et sexe	3 ^{ème} trimestre	Mesures ad-hoc, au domicile, échantillons collectés au moment de la naissance	Oui, ingestion, douches et bains, piscine	THMs, chlorites, chlorates	Régressions logistiques, OR ajustés sur tabac, préparation des repas à la maison, type d'eau consommée	TTHM Parmi les consommateurs d'eau, prenant douches ou bains quotidiennement <10 µg/L ≥10 µg/L	1 0,73 (0,56-1,35)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Hinckley et al. 2005b)	1998-2003, Arizona	Cohorte rétrospective, dans 1 communauté, N=48 119	N=4008	3 ^{ème} trimestre + fenêtres spécifiques : 25-28 SA, 29-32, 33-36, 37-40, 41-44	Données réglementaires fournies par producteurs d'eau (trimestrielles), 3 réseaux, modélisation des données manquantes (splines)	Non	THMs, HAAs	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, parité, niveau d'études, race, ethnic, tabac et index de Kessner	Aucune association entre prématurité et exposition aux THMs et HAAs	Résultats chiffrés non présentés
(Lewis et al. 2007)	1999-2001, Massachusetts	Registre des naissances, population desservie par un seul réseau d'eau N=37 498 naissances	N=2813	1 ^{er} et 2 ^{ème} trimestres et 4 semaines avant la naissance, grossesse entière	Mesures réglementaires hebdomadaires dans un seul réseau	Non	TTHM	Modèles de survie, avec « risk sets », ajustés sur sexe, statut marital, suivi de la grossesse, âge maternel, race, niveau d'études, parité, tabac, assurance maladie, saison de conception, saison de naissance, revenu par personne, antécédents de prématurité ou de RCIU, pathologie pendant la grossesse	1 ^{er} trimestre	
									<40 µg/L	1
									40-60	1,02 (0,92-1,13)
									≥60	1,00 (0,88-1,14)
									Δ 10 µg/L	0,98 (0,95-1,02)
									2 ^{ème} trimestre	
									<40 µg/L	1
									40-60	0,87 (0,77-0,99)
									≥60	0,82 (0,71-0,94)
									Δ 10 µg/L	0,95 (0,92-0,99)
									4 semaines avant naissance	
(Yang et al. 2007)	2000-2002, Taïwan (65 municipalités)	Cohorte rétrospective, registre des naissances, N=90 848 1 ^{ères} naissances unique	N=2818	Grossesse entière	Données annuelles de surveillance sur la base de mesures trimestrielles (enquête nationale de 2000 et 2002)	Non	TTHM	Régression logistique, OR ajustés sur statut marital, niveau d'études, âge maternel et sexe	<4,9 µg/L	1
									4,9-13,1	1,03 (0,94-1,13)
									>13,1	1,08 (0,98-1,18)
									Grossesse	
									<40 µg/L	1
									40-60	0,92 (0,79-1,06)
									≥60	0,81 (0,67-0,99)
									Δ 10 µg/L	0,95 (0,91-0,99)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Hoffman et al. 2008a)	2000-2004, USA, 3 communautés, correspondant à 3 types d'eau (chlorée, bromée, peu exposée)	Cohorte prospective N=2039	N=185	2 ^{ème} trimestre	Mesures hebdomadaires ou bimensuelles ad hoc dans les réseaux de la cohorte	Oui. Ingestion (filtres, ébullition) bains, douches, doses internes	THMs, HAAs, TOH	Régression log-binomiale, RR ajustés sur âge maternel, race, revenu, niveau d'études, travail pendant grossesse, statut marital, IMC, parité et apport de caféine	TTHM	1
									2,2-4,6 µg/L	0,8 (0,5-1,3)
									33,1-55,0	0,9 (0,6-1,4)
									55,1-66,3	0,7 (0,4-1,1)
									66,4-74,8	0,5 (0,3-0,9)
									74,9-108,8	0,5 (0,3-1,1)
									≥80 vs <80	0,5 (0,3-1,1)
									TTHM via douches	1
									0,02-0,09	0,9 (0,6-1,4)
									0,1-0,8	0,7 (0,4-1,0)
									0,9-1,5	0,8 (0,5-1,2)
									1,6-27,1	
									HAAs	1
									0-0,9	1,1 (0,8-1,7)
									17,9-22,0	0,8 (0,5-1,2)
									22,1-31,5	0,5 (0,3-0,8)
									31,6-40,4	0,7 (0,4-1,1)
									40,5-52,8	
									HAAs ingérés	1
									0	0,9 (0,6-1,4)
									0,01-16,1	0,9 (0,6-1,4)
									16,2-54,4	0,6 (0,4-0,9)
									54,5-369,1	
(Villanueva et al. 2011)	2000-2008, Espagne, 5 régions	Cohorte prospective, N=2074	N~77	Les 3 trimestres, focus sur le 2 ^{ème} trimestre	Mesures ad hoc dans les réseaux + données réglementaires + modélisation	Oui Ingestion, douches, bains, piscine	THMs	Régression logistique, OR ajustés sur sexe, PN, parité, taille et poids maternels, gain de poids, tabac, région	OR pour une augmentation de 10% de l'apport (2 ^{ème} trimestre)	
									CLF	
									total	0,99 (0,98-1,01)
									ingestion	1,00 (0,99-1,01)
									douches/bains	0,99 (0,98-1,01)
									piscine	0,99 (0,98-1,00)
									THMs bromés	
									total	1,00 (0,98-1,02)
									ingestion	1,01 (0,99-1,02)
									douches/bains	1,00 (0,98-1,02)
									piscine	0,99 (0,98-1,00)
									Résultats idem	les 3 trimestres

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Nombre de cas de prématurité	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Horton et al. 2011)	2000-2004, Caroline du Nord, USA	Registre des naissances, 2 sites : site avec dominance de SPCs bromés/ site avec dominance de SPCs chlorés N=31008	N=2639	2 ^{ème} trimestre	Mesures hebdomadaires ad hoc dans les réseaux, points représentatifs, 2000-2004 pour le site bromé, 2002-2004 pour le site chloré	Non	TTHM HAA5 TOX	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, race, statut marital, niveau d'études, tabac et alcool, parité	Site chloré	
									TTHM	
									<50 %	1
									50 ^{ème} - 75 ^{ème} %	0,93 (0,84-1,04)
									75 ^{ème} - 90 ^{ème} %	1,01 (0,89-1,14)
									>90 ^{ème} %	0,91 (0,74-1,11)
									Continu	0,98 (0,95-1,00)
									HAA5	
									<50 %	1
									50 ^{ème} - 75 ^{ème} %	1,05 (0,94-1,17)
									75 ^{ème} - 90 ^{ème} %	0,94 (0,84-1,06)
									>90 ^{ème} %	1,04 (0,79-1,38)
									Continu	0,98 (0,94-1,03)
									Site bromé	
									TTHM	
									<50 %	1
(Patelarou et al. 2011)	2007-2008, Crète	Cohorte prospective N=1359 naissances vivantes uniques	N~156	Les 3 trimestres et grossesse entière	Mesures ad hoc dans réseaux : 2 points par réseau, prélevés 4 fois pendant la période de la cohorte	Oui, ingestion, douches, vaisselle, calcul de doses internes	THMs bromés HAAs mesurés mais < LD	Régressions logistiques, OR ajustés sur sexe, âge gestationnel, tabac	TTHM bromés	(3 ^{ème} tercile versus 1 ^{er} tercile)
									THMs résidentiels	
									(>7,79 vs < 0,15 µg/L)	0,8 (0,5-1,3)
									Dose interne	
									toutes voies	
									(>0,96 vs	0,9 (0,6-1,4)
									<0,0041 µg/L)	

Tableau 47. Etudes associant l'exposition prénatale aux SPCs et le risque de restriction de croissance (1996-2012)

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Kallen and Robert 2000)	1985-1994, Suède	Cohorte rétrospective, registres des naissances N=114 484	Poids rapporté à AG, sexe et parité < 2 écart-types, références nationales N= ?	Grossesse	Type de désinfectant	Non	-	Analyses stratifiées (Mantel-Haenszel) sur année de naissance, âge maternel, parité, niveau d'études, tabac	Pas de désinfection ClO ₂ NaClO	1 0,95 (0,84-1,07) 1,07 (0,96-1,19)
(Jaakkola et al. 2001)	1993-1995, Norvège	Cohorte rétrospective, registres des naissances N=137 145	<10ème percentile du poids rapporté à AG, défini sur l'ensemble des naissances N~123 75	Grossesse entière	Type d'eau et de désinfectant	Non	-	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, parité, rang de naissance, caractéristiques socio-économique de la zone de résidence	Pas de chloration, peu de NOM Pas de chloration, bcp de NOM Chloration, peu de NOM, Chloration, bcp de NOM	1 1,02 (0,89-1,14) 1,00 (0,91-1,11) 1,00 (0,91-1,10)
(Kramer et al. 1992)	1989-1990, Iowa	Cas-témoins en population N=4128	<5% du poids rapporté à l'AG N=187	Grossesse entière	Base de données réglementaire, données de 1987, municipalité de résidence à l'accouchement	Non	CLF	Régression logistique, OR ajustés	ND 1-9 µg/L ≥10 µg/L	1 1,3 (0,9-1,8) 1,8 (1,1-2,9)
(Bove et al. 1995)	1985-1988, New Jersey	Cohorte rétrospective N=80 938 naissances vivantes	<5% du poids rapporté au sexe, race, et AG N=4082	Moyenne sur la grossesse entière	Estimation de niveaux mensuels de THMs à partir de base de données réglementaire	Non	TTHM	Régression logistique, OR ajustés	≤20 ppb 20-40 40-60 60-80 80-100 >100	1 0,98 (0,84-1,15) 1,33 (1,23-1,44) 1,11 (1,01-1,22) 1,22 (1,07-1,39) 1,50 (1,15-1,96)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Dodds et al. 1999)	1988-1995, Nova Scotia, Canada	Cohorte rétrospective N=93 295 naissances uniques	<10ème percentile du poids rapporté au sexe et à l'AG, population de référence canadienne N=4673 SGA	3 ^{ème} trimestre	Base de données réglementaire, 3 points de mesure/réseau, 4 prélèvements/an, mais irréguliers + modélisation des données manquantes (régression linéaire)	Non	TTHM	Régression de poisson, RR ajustés	0-49 µg/L	1
									50-74	1,04 (0,97-1,11)
									75-99	1,01 (0,92-1,11)
									≥100	1,08 (0,99-1,18)
(Wright et al. 2003)	1990, Massachusetts, 96 communautés > 10 000 hab	Cohorte rétrospective, 56 513 naissances vivantes	<10ème percentile du poids, stratifié sur AG, sexe, et race, chez nés à terme, référence=naissances de 1990 Massachusetts N=5310 SGA	Les 3 trimestres et moyenne sur la grossesse	Base de données réglementaire, données trimestrielles, 1987-1993, imputation par la moyenne	Non	TTHM	Régression logistique, OR ajustés	1 ^{er} trimestre	
									0-60 µg/L	1
									60-80	1,00 (0,89-1,10)
									>80	1,09 (0,98-1,21)
									2 ^{ème} trimestre	
									0-60 µg/L	1
									60-80	0,99 (0,89-1,10)
									>80	1,13 (1,03-1,24)
									3 ^{ème} trimestre	
									0-60 µg/L	1
									60-80	0,98 (0,89-1,09)
									>80	1,03 (0,94-1,14)
									Grossesse	
									0-60 µg/L	1
									60-80	1,00 (0,92-1,09)
									>80	1,14 (1,02-1,26)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Aggazzotti et al. 2004)	1999-2000, Italie, 9 villes,	Cohorte prospective, N=1196, Cas-témoins	<10ème percentile du poids ajusté sur AG et sexe (références populationnelles italiennes), nés à terme N=239 cas, N=612 témoins appariés sur AG et sexe	3 ^{ème} trimestre	Mesures ad-hoc, au domicile, échantillons collectés au moment de la naissance	Oui, ingestion, douches et bains, piscine	THMs, chlorites, chlorates	Régressions logistiques, OR ajustés sur sexe, niveau d'études, tabac, consommation de boissons, type d'eau bue	TTHM Parmi les consommateurs d'eau, prenant douches ou bains quotidiennement <10 µg/L ≥10 µg/L Chlorites <20 µg/L 20-199 ≥200 Chlorates <20 µg/L 20-199 ≥200	1 0,63 (0,31-1,28) 1 1,12 (0,67-1,80) 1,32 (0,85-2,11) 1 0,98 (0,64-1,52) 1,19 (0,54-2,62)
(Wright et al. 2004)	1995-1998, Massachusetts, communautés > 10 000 hab	Cohorte rétrospective N=196 000	<10ème percentile du poids, stratifié sur AG, sexe, et race, chez nés à terme, référence=naissances de 1990 Massachusetts N=17 359 SGA	3 ^{ème} trimestre	Base de données réglementaire, 1995-1998 pour les THMs, 1997-1998 pour HAAs, mesures ad-hoc pour MX et mutagénicité	Non	TTHM HAAs TCAA, DCAA, MX	Régression logistique, OR ajustés sur niveau de revenu médian de la zone d'habitation, suivi de la grossesse, race, niveau d'études, âge maternel, parité, tabac, antécédent de PN>4000g, de prématurité et pathologies de la grossesse	TTHM 0-33 µg/L 33-74 >74-163 CLF 0-26 µg/L 26-63 >63-135 BDCM 0-5 µg/L 5-13 >13-46 TCAA 0-18 µg/L 18-27 >27-37 DCAA 2-15 µg/L 15-22 >22-24 HAAs 4-30 µg/L 30-49 >49-58	1 1,06 (1,02-1,10) 1,13 (1,07-1,20) 1 1,05 (1,02-1,09) 1,11 (1,04-1,17) 1 1,10 (1,07-1,14) 1,15 (1,08-1,22) 1 0,87 (0,76-0,99) 0,95 (0,76-1,19) 1 0,86 (0,75-0,99) 0,90 (0,75-1,09) 1 0,90 (0,81-1,01) 0,97 (0,77-1,23)

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Infante-Rivard 2004)	1998-2000, Montréal, Canada	Cas-témoins hospitaliers	493 cas, <10ème percentile du poids ajusté sur AG et sexe (référence populationnelle canadienne) 472 témoins appariés sur AG, race et sexe	Grossesse	Mesures réglementaires (municipalités et Ministère de l'Environnement), fréquence de collecte non indiquée	Oui Ingestion, douches	THMs	Régression logistique, OR ajustés sur sexe, âge gestationnel, race, gain de poids, IMC, tabac au 3 ^{ème} trimestre, primiparité, pré-éclampsie, antécédent de RCIU Analyses stratifiées sur polymorphismes de 2 gènes	TTHM ≤29,4 µg/L >29,4 CLF ≤23,7 >23,7 Parmi les nouveaux-nés porteurs variant CYP2E1*5 TTHM ≤29,4 µg/L >29,4 CLF ≤23,7 >23,7 Aucun effet en intégrant les usages de l'eau	1 0,97 (0,57-1,62) 1 1,06 (0,63-1,79) 1 13,2 (1,19-146,7) 1 5,62 (0,82-38,39)
(Porter et al. 2005)	1998-2022, Maryland (4 régions)	Cohorte rétrospective N=15315 naissances uniques	<10ème percentile du poids, stratifié sur race, AG, sexe (recensement population USA) N=1114	Grossesse entière et 3 trimestres	Mesures mensuelles par la société de distribution d'eau (1997-2002 pour les THMs, 1999-2022 pour HAAs)	Non	THMs, HAAs	Régression logistique, OR ajustés	Gross. entière TTHM Q1 Q2 Q3 Q4 Q5 TCAA Q1 Q2 Q3 Q4 Q5	1 1,18 (0,97-1,44) 1,20 (0,99-1,46) 1,05 (0,86-1,29) 1,17 (0,96-1,42) 1 1,30 (1,01-1,65) 1,34 (1,05-1,71) 1,21 (0,94-1,55) 1,20 (0,94-1,54)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Hinckley et al. 2005b)	1998-2003, Arizona	Cohorte rétrospective, dans 1 communauté, N=48 119	<10ème percentile du poids, stratifié sur race, ethnie, AG, sexe (population de référence USA 1994-1996) N=4346	3 ^{ème} trimestre + fenêtres spécifiques su 3 ^{ème} trimestre : 25-28 SA, 29-32, 33-36, 37-40, 41-44	Données réglementaires trimestrielles, voire mensuelles, 3 réseaux, 2 à 4 points de prélèvements/site, modélisation des données manquantes par splines (comme dodds 1999, 2001, King 2000)	Non	THMs, HAAs	Régression logistique, OR ajustés sur parité, niveau d'études, tabac et index de Kessner	TTHM 3 ^{ème} trimestre	
									<40 µg/L	1
									40-53	0,98 (0,90-1,07)
									≥53	1,09 (1,00-1,18)
									CLF	
									<10 µg/L	1
									10-16	1,02 (0,94-1,11)
									≥16	1,01 (0,93-1,10)
									BDCM	
									<13 µg/L	1
									13-18	0,93 (0,85-1,01)
									≥18	1,03 (0,95-1,12)
									DBCM	
									<12 µg/L	1
									12-16	0,96 (0,89-1,05)
									≥16	1,01 (0,94-1,10)
(Yang et al. 2007)	2000-2002, Taïwan (65 municipalités)	Cohorte rétrospective, registre des naissances, N=90 848 naissances uniques, de 1 ^{er} rang de naissance	<10ème percentile du poids, stratifié sur AG et sexe, dans la cohorte N=8938	Grossesse entière	Données annuelles de surveillance sur la base de mesures trimestrielles (enquête nationale de 2000 et 2002)	Non	TTHM	Régression logistique, OR ajustés sur statut marital, niveau d'études, âge maternel et sexe	HAA5	
									<15 µg/L	1
									15-19	1,00 (0,87-1,15)
									≥19	1,08 (0,94-1,23)
									TCAA	
									<4 µg/L	1
									4-6	1,00 (0,84-1,18)
									≥6	1,19 (1,01-1,41)
									DCAA	
									<6 µg/L	1
									6-8	1,15 (0,97-1,36)
									≥8	1,28 (1,08-1,51)
									TTHM	
									<4,9 µg/L	1
									4,9-13,1	1,00 (0,94-1,04)
									>13,1	0,96 (0,91-1,02)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Hoffman et al. 2008b)	2000-2004, USA (3 communautés)	Cohorte prospective N=2039	<10ème percentile du poids, ajusté sur AG, sexe, race (références nationales USA) N=113	3 ^{ème} trimestre	Mesures hebdomadaires ad hoc dans les réseaux de la cohorte ; 2 métriques : environnementale et consommation d'eau individuelle	Oui	THMs, HAAs, TOH	Régression log-binomiale, RR ajustés sur âge maternel, race, revenu, niveau d'études, travail pendant grossesse, statut marital, IMC, parité et apport de caféine	TTHM 2,2-4,6 µg/L	1
									33,1-55,0	1,2 (0,7-2,2)
									55,1-66,3	0,8 (0,4-1,5)
									66,4-74,8	1,2 (0,7-2,2)
									74,9-108,8	1,3 (0,7-2,3)
									≥80 vs <80	2,0 (1,1-3,6)
									TTHM via douches	
									0,02-0,09	1
									0,1-0,8	1,2 (0,7-2,2)
									0,9-1,5	1,0 (0,5-1,8)
									1,6-27,1	1,6 (1,0-2,7)
									HAAs	
									0-0,9	1
									17,9-22,0	1,3 (0,8-2,2)
									22,1-31,5	1,3 (0,7-2,4)
(Villanueva et al. 2011)	2000-2008, Espagne, 5 régions	Cohorte prospective, N=2074	<10ème percentile du de poids ajusté sur AG et sexe, références nationales N~220	2 ^{ème} trimestre	Mesures ad hoc dans les réseaux + données réglementaires + modélisation	Oui	THMs	Régression logistique , OR ajustés sur parité, taille et poids maternels, gain de poids, tabac, région	OR pour une augmentation de 10% de l'apport total	
									CLF	
									T1	1,00 (0,99-1,01)
									T2	1,00 (0,99-1,01)
									T3	1,00 (0,99-1,01)
									Grossesse	1,00 (0,99-1,01)
									THMs bromés	
									T1	1,00 (0,99-1,02)
									T2	1,00 (0,99-1,02)
									T3	1,00 (0,99-1,02)
									Grossesse	1,00 (0,99-1,02)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Horton et al. 2011)	2000-2004, Caroline du Nord, USA	Registre des naissances, 2 sites : site avec dominance de SPCs bromés/ site avec dominance de SPCs chlorés N=31008	<10ème percentile du poids ajusté sur AG, sexe et race (références nationales américaines + références spécifiques pour population hispanique) N=1914	3 ^{ème} trimestre	Mesures hebdomadaires ad hoc dans les réseaux, points représentatifs, 2000-2004 pour le site bromé, 2002-2004 pour le site chloré	Non	TTHM HAA5 TOX	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, race maternelle, statut marital, niveau d'études, tabac et alcool, parité	Site chloré	
									TTHM	
									<50 %	1
									50 ^{ème} - 75 ^{ème} %	1,02 (0,91-1,15)
									75 ^{ème} - 90 ^{ème} %	1,12 (0,96-1,30)
									>90 ^{ème} %	1,06 (0,87-1,29)
									Continu	1,01 (0,98-1,04)
									HAA5	
									<50 %	1
									50 ^{ème} - 75 ^{ème} %	1,02 (0,91-1,16)
									75 ^{ème} - 90 ^{ème} %	0,97 (0,85-1,11)
									>90 ^{ème} %	0,68 (0,49-0,94)
									Continu	0,96 (0,91-1,01)
									Site bromé	
									TTHM	
									<50 %	1
(Patelarou et al. 2011)	2007-2008, Crète	Cohorte prospective N=1359 naissances vivantes uniques	<10ème percentile du ajusté sur AG et sexe, population de référence espagnole (références non à jour en Crète) N~74	Les 3 trimestres et grossesse entière	Mesures ad hoc dans réseaux : 2 points par réseau, prélevés 4 fois pendant la période de la cohorte	Oui, ingestion, douches, vaisselle, calcul de doses internes	THMs bromés HAAs mesurés mais > LD	Régressions logistiques, OR ajustés sur sexe, âge gestationnel, tabac	TTHM bromés (terciles bornes)	(3ème tercile versus 1er tercile)
									THMs résidentiels (>7,79 vs < 0,15 µg/L)	1,1 (0,6-2,2)
									Dose interne toutes voies (>0,96 vs <0,0041 µg/L)	0,9 (0,5-1,8)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Grazuleviciene et al. 2011)	2007-2009, Kaunas, Lituanie	Cohorte prospective N=3341 naissances vivantes uniques	<10ème percentile du ajusté sur AG, sexe et origine ethnique, références populationnelles Lituanie 2004 N=270	Les 3 trimestres et grossesse entière	Mesures ad hoc dans les 4 réseaux: 3 points par réseau, prélevés 4 fois/an pendant la période de la cohorte ; données trimestrielles Hypochlorite de sodium	Oui, ingestion, douches et bains. Calcul de doses internes	THMs (niveaux assez faibles – moyenne site élevé = 21,9 µg/L)	Régressions logistiques, OR ajustés sur âge maternel, parité, année de naissance, IMC, tabac et alcool, niveau d'études, statut marital, antécédent de prématurité	Doses internes (µg/jour) Grossesse entière TTHM 0,0025-0,0386 0,0386-0,3545 0,3545-2,4040 CLF 0,0013-0,0249 0,0249-0,2868 0,2868-2,1328 Pas de différence entre les trimestres	1 1,18 (0,86-1,82) 1,34 (0,98-1,07) 1 1,16 (0,84-1,59) 1,31 (0,96-1,79) Pas d'association pour les composés bromés
(Levallois et al. 2012)	2006-2008, Québec, Lévis, Canada (16 réseaux)	Cas-témoins Ratio 1:3 N=571 cas N=1925 témoins, nés la même semaine calendaire, naissance unique, poids normal pour l'âge gestationnel	<10ème percentile du du poids, ajusté sur AG et sexe, références population canadienne N=	Focus sur le 3 ^{ème} trimestre	Mesures mensuelles ad hoc dans les réseaux, points de prélèvements représentatifs. Niveaux attribués aux femmes selon proximité géographique et temporelle	Oui, Ingestion, douches, THMs vaporisés dans l'air, doses internes	THMs, HAA5	Régression logistique, OR ajustés sur âge maternel, semaine calendaire, niveau d'études, revenu annuel, IMC, parité, antécédents de PPN, tabac actif et passif, consommation de café, alcool, maladies chroniques et pré-éclampsie	TTHM réseau (µg/L) <21,6 21,6-34,6 34,6-57,5 >57,5 <80 >80 TTHM ingérés (µg/jour) <2,7 2,7-16,5 16,5-41,2 >41,2 HAA5 réseau <2,6 (µg/L) 2,6-13,0 13,0-33,4 >33,4 HAA5 ingérés <2,6 2,6-13,0 13,0-33,4 >33,4	1 0,9 (0,7-1,3) 0,9 (0,7-1,3) 1,2 (0,9-1,7) 1 1,5 (1,1-1,9) 1 1,2 (0,9-1,7) 1,0 (0,7-1,3) 1,4 (1,0-1,9) 1 (0,8-1,5) (0,9-1,6) 1,4 (1,0-1,9) 1 1,1 (0,8-1,5) 1,2 (0,9-1,6) 1,4 (1,0-1,9)

CHAPITRE 3 : Exposition prénatale aux sous-produits de chloration de l'eau et issues de grossesse

Auteur	Période et lieu de recrutement	Design	Définition du retard de croissance	Fenêtre d'exposition	Mesure de l'exposition	Usages de l'eau	SPC étudié	Modèle	Associations	
									Exposition	OR ou RR (voir modèle) et IC _{95%}
(Danileviciute et al. 2012)	2007-2009, Lituanie, Ville de Kaunas	Cas-témoins niché dans la cohorte Kank (N=3341) N=549 témoins N=96 cas de SGA	<10ème percentile du poids ajusté sur AG, sexe et ethnique (ref ?) N=	Grossesse et trimestres	Mesures trimestrielles ad hoc dans les réseaux (4 réseaux) (2007-2009)	Oui Ingestion, douches et bains, doses internes	THMs	Régression logistique, OR ajustés sur statut marital, âge gestationnel ² , niveau d'études, tabac maternel et paternel, alcool, IMC, hypertension, prématurité, sexe, année de naissance	TTHM dose interne <0,17 (µg/jour) >0,17 CLF <0,14 >0,14 BDCM <0,028 >0,028 DBCM <0,0026 >0,0026	1 1,32 (0,83-2,10) 1 1,31 (0,82-20,9) 1 1,31 (0,82-2,09) 1 1,35 (0,80-2,29)
(Summerhayes et al. 2012)	1997-2004, Australie	Cohorte prospective, registre des naissances (314 982 naissances)	<10ème percentile du poids ajusté sur âge gestationnel – définition interne au registre (? non précisé) N=	Grossesse et trimestres	Données réglementaires, données mensuelles mais pas sur tous les sites (rotation des prélèvements) reliés de manière hiérarchique. Données manquantes imputées par valeur moyenne du même niveau hiérarchique	Non	TTHM CLF, DBCM, BDCM	Régressions log-binômiales	Pour une augmentation d'un intervalle interquartile CLF (25 µg/L) DBCM (1 µg/L) BDCM (5 µg/L) TTHM (25 µg/L) Effets modifiés par le statut tabagique :	1,04 (1,02-1,06) 1,00 (0,99-1,01) 1,02 (1,01-1,04) 1,03 (1,01-1,05) associations chez les non-fumeuses, pas chez les fumeuses

II. La cohorte PELAGIE

La cohorte PELAGIE (Perturbateurs Endocriniens : étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité et l'Enfance) est une cohorte mère-enfants créée en Bretagne en 2002 par l'équipe d'épidémiologie de INSERM U1085. Elle a pour objectif d'évaluer l'exposition prénatale à différents polluants environnementaux (pesticides, solvants, dérivés de la chloration de l'eau) et d'en mesurer l'impact sur la grossesse, le développement intra-utérin et le développement de l'enfant. Les femmes de la cohorte ($n = 3421$) ont été incluses entre avril 2002 et février 2006 dans trois départements bretons : l'Ille et Vilaine (2214 femmes), le Finistère (188 femmes) et les Côtes d'Armor (1020 femmes).

Le recrutement des femmes enceintes s'est fait par l'intermédiaire de gynécologues et échographistes des 3 départements, ainsi que par les sages-femmes et les obstétriciens de 5 maternités des Côtes d'Armor. Ces professionnels ont été contactés par courrier pour participer à l'étude et environ 20% d'entre eux ont accepté de collaborer, ainsi que 3 des 5 maternités des Côtes d'Armor. Les femmes enceintes ont été incluses d'avril 2002 à février 2006, à l'occasion de leur première visite prénatale, avant 19 semaines d'aménorrhée chez un des professionnels participant à l'étude. Ces derniers présentaient à leurs patientes les objectifs et modalités de l'étude. En cas d'accord, ils remettaient à la patiente le questionnaire d'inclusion. Ce questionnaire était rempli par la patiente à son domicile et envoyé par la poste à l'équipe de recherches, accompagné d'un échantillon d'urines (premières urines du matin), à l'aide d'une enveloppe adaptée, préaffranchie. Le questionnaire d'inclusion collectait des informations sur les caractéristiques sociodémographiques, les habitudes de vie de la femme enceinte (alimentation, consommation de tabac et d'alcool, pratique d'un sport), l'origine géographique, les grossesses antérieures, la profession et les produits utilisés. Le taux de participation des femmes a été estimé à 80%. Au cours de la période d'inclusion, 3592 femmes ont donné leur accord de participation. Les femmes ayant retourné un questionnaire après 19 semaines d'aménorrhée ont été exclues de la cohorte. Au final, la cohorte initiale comporte 3421 femmes.

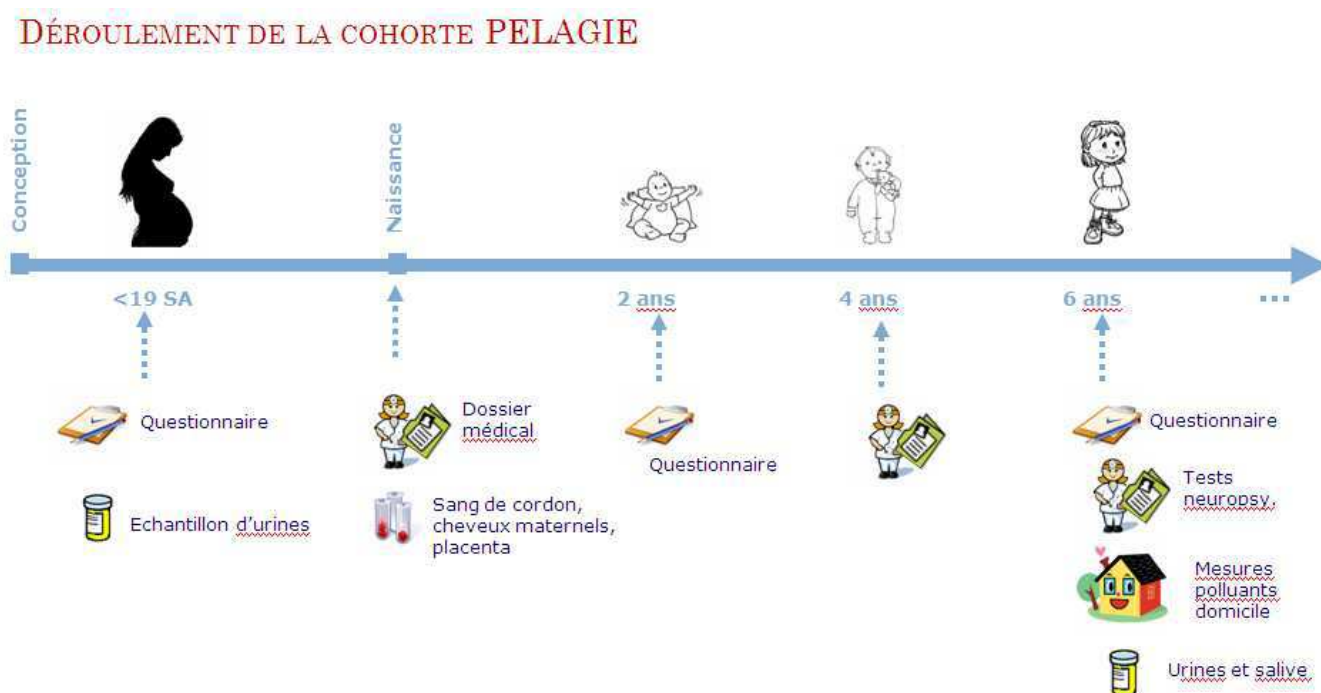
A la naissance de l'enfant, les informations concernant le déroulement de la grossesse et l'état de santé du bébé ont été collectées par les sages-femmes et le pédiatre qui a vu l'enfant avant sa sortie de la maternité. Différents échantillons biologiques ont été collectés à ce moment : un échantillon de sang du cordon ombilical, un morceau du placenta, une mèche de cheveux de la maman. Parmi les femmes incluses initialement, 22 femmes ont été perdues de vue et 3323 ont

donné naissance à un enfant unique vivant. 39 femmes ont donné naissance à des jumeaux et 39 morts fœtales (incluant des jumeaux) se sont produites.

Un suivi des enfants à 2 ans a ensuite été mis en place, afin de suivre le développement de l'enfant. Des questionnaires détaillés ont été envoyés à 2996 familles : sur les 3323 naissances vivantes et uniques, les familles dont l'enfant avait plus de 2 ans et demi ($n=320$) au début du suivi à 2 ans, ou l'enfant était décédé ($n=6$) et un cas où la mère était décédée n'ont pas été recontactées. Au total, 50% des femmes ont retourné un questionnaire rempli ($n=1505$). La moitié des non-réponses était due à un changement d'adresse de la mère depuis la naissance de l'enfant, le questionnaire ne leur est donc pas parvenu.

Le suivi des enfants de la cohorte PELAGIE est toujours en cours aujourd'hui.

Figure 17. Le déroulement de la cohorte PELAGIE



Pour notre étude concernant l'effet sur la prématurité et la restriction de croissance, nous avons restreint l'échantillon d'analyse aux naissances vivantes, uniques, sans malformation majeure (selon la définition du réseau EUROCAT). Nous avons aussi exclu de l'analyse trois femmes qui exerçaient une profession les exposant aux solvants chlorés dont le perchloroéthylène et le tetrachloroéthylène (travailleuses de pressing, dans l'imprimerie et l'optique) car ces produits

sont métabolisés en TCAA et l'une de nos mesures d'exposition est le TCAA urinaire. Au final, notre échantillon comporte 3223 femmes ayant donné naissance à un enfant unique.

Les caractéristiques de ces femmes sont présentées dans le Tableau 48. Les femmes de la cohorte PELAGIE se distinguent par un niveau scolaire élevé en moyenne (62,3% ont suivi des études universitaires), très majoritairement d'origine européenne. Les mères vivant sans conjoint sont très peu nombreuses. A l'inclusion dans l'étude, 84,8% des femmes ont un emploi. Le pourcentage de fumeuses en début de grossesse (elles ont pu arrêter plus tard dans la grossesse) est relativement bas, comme celui des femmes continuant à boire de l'alcool tous les jours. Pour 44,1% des femmes, il s'agit de leur première grossesse, pour 37,2% de leur deuxième. L'âge gestationnel médian auquel elles ont été incluses dans l'étude est de 11,7 semaines d'aménorrhée. En ce qui concerne leur état de santé, 74% des femmes ont un IMC normal, 12,9% sont en surpoids et 4,9% sont obèses. L'hypertension artérielle, présente avant ou apparue pendant la grossesse, concerne 5,5% des femmes et le diabète, présent avant ou apparu pendant la grossesse (diabète gestationnel) concerne 3,6% des femmes.

Tableau 48. Description des mamans et bébés de la cohorte PELAGIE (naissances vivantes uniques sans malformation majeure)

	Cohorte		Ni RCIU, ni Prématurité		Cas de RCIU		Cas de prématurité	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total ^a (No.)	3223		399		174		114	
Année d'inclusion								
2002-2003	1568	48,6	149	37,3	85	48,9	59	51,8
2004	1166	36,2	189	47,4	58	33,3	41	36,0
2005-2006	489	15,2	61	15,3	31	17,8	14	12,3
Département								
Ille et Vilaine	2010	62,4	238	59,6	106	60,9	72	63,2
Côtes d'Armor	904	28,0	132	33,1	55	31,6	28	24,6
Finistère and Morbihan	309	9,6	29	7,3	13	7,5	14	12,3
Age (années)								
<25	360	11,2	45	11,3	25	14,4	16	14,0
25-30	1286	39,8	145	36,3	57	32,8	46	40,4
30-35	1124	34,9	153	38,4	67	38,5	38	33,3
≥35	450	14,0	56	14,0	25	14,4	14	12,3
Manquant	3	0,1	0	0,0	0	0	0	0
Moyenne (std) [min-max]	30,0 (4,3) [16-44]		30,0 (4,2) [19-41]		30,0 (4,4) [19-42]		30,0 (4,2) [21-40]	
Statut marital								
Mariée ou en couple	3136	97,3	394	98,8	164	94,3	110	96,5
Mère isolée	82	2,5	4	1,0	10	5,8	4	3,5
Manquant	5	0,2	1	0,3	0	0,0	0	0,0
Origine géographique								
Européenne	3134	97,3	387	97,0	169	97,1	111	97,4
Non-Européenne	72	2,2	11	2,8	4	2,3	1	0,9
Manquant	17	0,5	1	0,2	1	0,6	2	1,7
Niveau scolaire de la mère								
Primaire/collège	604	18,7	78	19,5	47	27,0	26	22,8
Baccalauréat	602	18,7	79	19,8	25	14,4	18	15,8
Universitaire	2009	62,3	241	60,4	102	58,6	69	60,5
Manquant	8	0,3	1	0,3	0	0,0	1	0,9
Travail en début de grossesse								
Non	485	15,0	72	18,0	23	13,2	20	17,5
Oui	2733	84,8	327	82,0	151	86,8	94	82,5
Manquant	5	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Age gestationnel à l'inclusion								
Moy (std) [min-max]	11,7 (2,6) [1-19]		11,7 (2,4) [4-18]		11,9 [2,4] [5-19]		11,7 (2,3) [6-19]	
Parité (nb d'enfants)								
0	1422	44,1	162	40,6	79	45,4	70	61,4
1	1200	37,2	156	39,1	70	40,2	26	22,8
≥2	590	18,3	81	20,3	25	14,4	17	14,9
Manquant	11	0,4	0	0	0	0	1	0,9

.../...

Tableau 48 (suite). Description des mamans et bébés de la cohorte PELAGIE (naissances vivantes uniques sans malformation majeure)

	Cohorte		Ni RCIU, ni Prématurité		Cas de RCIU		Cas de prématurité	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total ^a (N)	3223		399		174		114	
IMC avant grossesse (kg/m ²)								
<18,5	236	7,3	28	7,0	10	5,8	11	9,6
18,5-25	2386	74,0	294	73,7	131	75,3	75	65,8
25-30	417	12,9	61	15,3	20	11,5	20	17,5
≥30	159	4,9	16	4,0	13	7,5	6	5,3
Manquant	25	0,8	0	0,0	0	0,0	2	1,8
Hypertension avant et/ou pendant la grossesse	176	5,5	21	5,3	26	14,9	30	26,3
Diabète avant et/ou pendant la grossesse	117	3,6	16	4,0	7	4,0	8	7,0
Consommation de tabac en début de grossesse (inclusion)								
Non fumeuse	2281	70,8	285	71,4	113	65,0	79	69,3
Fumeuse ≤ 10 cig/jour	594	18,4	78	19,6	30	17,2	21	18,4
Fumeuse > 10 cig/jour	311	9,6	33	8,3	31	17,8	11	9,7
Manquant	37	1,2	3	0,7	0	0,0	3	2,6
Consommation d'alcool en début de grossesse (inclusion)								
Nulle	2711	84,1	352	88,2	145	83,3	101	88,6
Occasionnelle	411	12,8	41	10,3	19	10,9	9	7,9
≥ 1 boisson /jour	60	1,9	2	0,5	7	4,0	4	3,5
Manquant	41	1,3	4	1,0	3	1,7	0	0,0
Caractéristiques du bébé								
Sexe (garçons)	1624	50,4	198	49,6	87	50,0	63	55,3
Poids de naissance (g), moyenne (std) [min-max]	3396 (490) [510-5580]		3500 (409) [2610-4720]		2571 (422) [510-3150]		2312 (643) [510-4420]	
Age gestationnel (SA), moyenne (std) [min-max]	39,4 (1,5) [25-42]		39,6 (1,1) [37-42]		39 (2,3) [26-42]		34,4 (2,4) [25-36]	

Abbréviation: RCIU : restriction de croissance intra-utérine

^a Naissances vivantes uniques, sans malformations majeures, dont les mères n'exercent pas de profession les exposant aux solvants chlorés.

III. Deux issues de grossesse d'intérêt : la prématurité et le retard de croissance intra-utérin

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à deux issues de grossesse défavorables particulières, en relation avec la durée de gestation et la croissance intra-utérine du bébé.

III.1 La durée de gestation

La durée de gestation est une donnée cruciale à la fois comme indicateur du déroulement de la grossesse en lui-même, mais aussi comme élément d'ajustement indispensable à l'interprétation des paramètres morphométriques du bébé à la naissance. Si la date de fin de grossesse ne présente pas de problème de mesure particulier, la date de début de grossesse est plus compliquée à évaluer.

III.1.1 L'estimation de l'âge gestationnel

Dans notre étude, la date de début de grossesse pouvait être estimée à l'aide de différentes sources :

- Dans le questionnaire d'inclusion, la femme enceinte indiquait la date de ses dernières règles (DDR)
- Dans le questionnaire d'inclusion rempli par le médecin ou l'échographe, celui-ci indiquait une date estimée de début de grossesse, reposant sur la déclaration des DDR, éventuellement corrigée suite aux résultats de la 1^{ère} échographie réalisée entre les 10^{ème} et 14^{ème} semaines d'aménorrhée. Pour certaines femmes, cet examen avait déjà eu lieu, pour d'autres non (en fonction du terme auquel le recrutement dans la cohorte avait lieu), sans que cela soit précisé. Il est donc difficile de savoir si le terme déclaré par le médecin repose uniquement sur la DDR ou si une correction a été faite suite aux résultats de la 1^{ère} échographie.
- A la naissance, la sage-femme ou l'obstétricien indiquait le terme à la naissance, sur la base du dossier médical de la patiente, tenant ainsi compte à la fois de la DDR et des corrections de termes indiquées dans le dossier.

Ces trois modes de datation du début de grossesse présentent des avantages et des inconvénients pour déterminer la durée de gestation.

L'utilisation des seules DDR peut induire des erreurs d'estimation de la date de début de grossesse du fait de cycles menstruels de durée différente entre les femmes et de cycles parfois irréguliers. L'hypothèse d'une ovulation 14 jours après les règles précédentes ne s'applique donc pas systématiquement à toutes les femmes. La déclaration par les femmes de leur DDR peut comporter une certaine imprécision, du fait d'un défaut de mémoire. Des saignements en début de grossesse peuvent aussi être indûment interprétés comme des règles. D'autre part, dans le cas de l'exposition à laquelle nous nous intéressons, les SPCs, une étude (Windham et al. 2003) a montré une relation décroissante entre l'exposition aux THMs via l'eau du robinet et les caractéristiques du cycle menstruel de 400 femmes aux Etats-Unis : une durée moyenne décroissante du cycle est associée à une augmentation du niveau de THMs dans les réseaux d'eau, et plus particulièrement des THMs bromés. La réduction s'opère sur la phase folliculaire (du 1^{er} jour des règles à l'ovulation) et non sur la phase lutéale (après l'ovulation). Les femmes les plus exposées aux THMs sont donc susceptibles d'avoir une ovulation plus précoce et une estimation de leur date de début de grossesse légèrement surestimée, contrairement aux femmes faiblement exposées (-1,1 jour [-1,8 ; -0,40] pour une exposition supérieure à 60 µg/L versus une exposition inférieure à 60 µg/L).

Les 2 autres méthodes d'estimation intègrent des données échographiques et une éventuelle correction de la date de début de grossesse par rapport à celle basée sur la DDR. Cette correction repose sur l'hypothèse d'une absence de variabilité de la taille du fœtus en début de grossesse, l'âge gestationnel étant le seul déterminant de la variabilité des mesures considéré. Les restrictions de croissance observées à la naissance ne se manifesteraient donc que plus tard dans la grossesse (après le 1^{er} trimestre). Or des retards de croissance précoces ont été mis en évidence dès le premier trimestre, en association avec des poids de naissance réduits (Bukowski et al. 2007). Le processus de restriction de croissance peut donc opérer dès le début de la grossesse sous l'effet d'expositions environnementales, par exemple. Si tel est le cas, la correction du terme par les données échographiques biaise l'estimation de l'âge gestationnel en le raccourcissant de manière erronée et génère potentiellement une sous-estimation de l'association entre exposition et risque de restriction de croissance (Olsen and Basso 2005), (Slama et al. 2008). La sensibilité des résultats des études épidémiologiques impliquant l'estimation de l'âge gestationnel à son mode d'estimation a été démontrée notamment par (Lynch and Zhang 2007).

Dans notre étude, les DDR déclarées dans le questionnaire d'inclusion présentaient un fort taux de réponses incohérentes avec la date d'accouchement, indiquant un problème de fiabilité de cette déclaration. Les deux autres sources d'information ont aussi présenté des

discordances, mais dans une moindre mesure. La comparaison de la durée de gestation estimée à partir de la date de début de grossesse déclarée par le médecin à l'inclusion sur la base de la DDR (et peut-être de données échographiques) et celle estimée au moment de la naissance, en intégrant les données échographiques, a montré une concordance de 90% des âges gestationnels à la naissance dans une fourchette de +/- 1 semaine, et de 95,7% dans une fourchette de +/- 2 semaines. Les discordances les plus importantes ont été observées dans le sens d'une sous-estimation par la mesure estimée à la naissance (3,8% des grossesses avec une sous-estimation supérieure à 2 SA, 0,5% avec une surestimation supérieure à 2 SA).

Nous avons choisi d'utiliser le terme estimé à la maternité (corrigé des données échographiques), compte tenu de l'incertitude sur l'utilisation par le médecin à l'inclusion de données échographiques. Lorsque cette variable n'était pas disponible, nous avons utilisé le terme déclaré par le gynécologue à l'inclusion.

III.1.2 La prématurité

Nous avons considéré les naissances se produisant avant la 37^{ème} semaine d'aménorrhée comme des naissances prématurées. Dans notre échantillon de 3223 naissances vivantes uniques sans malformations majeures, 114 (3,5%) naissances prématurées ont été observées.

III.1.3 Les facteurs associés au risque de prématurité dans la cohorte PELAGIE

Dans la cohorte PELAGIE (parmi les naissances vivantes, uniques, sans malformation majeure), nous avons observé une association significative entre le risque de prématurité et l'hypertension artérielle et le diabète maternels (préexistant ou apparaissant pendant la grossesse), ainsi que la parité (les primipares sont surreprésentées parmi les naissances prématurées). Les facteurs socio-économiques tels que le statut marital, l'origine géographique, le niveau d'études ne sont pas liés au risque de prématurité dans notre cohorte. Il en est de même des comportements à risque tels que la consommation de tabac et d'alcool. Pour cette dernière variable, les femmes non-buveuses et les femmes buvant régulièrement pendant la grossesse sont surreprésentées parmi les naissances prématurées (P=0,12). Ces résultats sont présentés dans le Tableau 65, situé en Annexe B.

III.2 Le retard de croissance intra-utérin

La croissance intra-utérine peut se mesurer pendant la grossesse à l'aide des échographies de contrôle qui permettent de mesurer l'évolution des paramètres biométriques tels que le diamètre bipariétal, les périmètres crânien et abdominal et la taille du fémur, en fonction de l'âge gestationnel. Dans la cohorte PELAGIE, nous ne disposons pas de ces mesures. A la naissance, le poids, la taille et le périmètre crânien du bébé sont les indicateurs de la croissance intra-utérine.

III.2.1 Le petit poids pour l'âge gestationnel (« *small for gestational age* » – SGA)

Un retard de croissance intra-utérin se manifeste à la naissance par un poids du bébé inférieur à celui attendu compte tenu de la durée de la grossesse et du sexe du bébé : le poids, la taille, le périmètre crânien à la naissance sont comparés aux courbes de référence populationnelle. En France, il s'agit des courbes Audipog, issues d'une banque de données constituée depuis 1994 qui inclut les dossiers obstétricaux issus de maternités volontaires, publiques et privées, de toutes les régions de France métropolitaine et des DOM-TOM (AUDIPOG 2008). Entre 1999 et 2005, 211 337 bébés nés entre 24 et 42 SA, issus de naissances simples ou multiples, ont été inclus dans les statistiques. Les bébés morts-nés, porteurs d'une malformation congénitale et ceux dont le sexe est indéterminé sont exclus de la base de données. Le poids moyen et son écart-type ont fait chacun l'objet d'une régression polynomiale (âge gestationnel, âge gestationnel², âge gestationnel³) pour chaque sexe permettant d'obtenir pour un sexe et un âge gestationnel donné le poids attendu (et son écart-type attendu). Il a été fait de même pour la taille et le périmètre crânien.

La comparaison des paramètres morphométriques néonataux à ces références se fait par le calcul d'un z-score selon la formule :

$$\text{z-score (poids observé)} = \frac{(\text{poids de naissance observé} - \text{poids de naissance attendu})}{\text{écart-type attendu}}.$$

Une approche par percentiles est aussi possible :

$$\text{percentile (poids observé)} = \Phi(\text{zscore}) * 100$$

où Φ est la fonction de répartition d'une loi normale centrée-réduite.

Elle permet de situer le poids de naissance du bébé dans la distribution des poids observés chez les bébés de mêmes sexe et âge gestationnel. On définit habituellement un retard de croissance si le percentile observé est inférieur à 10% ou 5%.

III.2.2 La restriction de croissance intra-utérine (RCIU)

La mesure du retard de croissance présentée ci-dessus ne tient pas compte de facteurs pouvant faire varier les paramètres biométriques du bébé, notamment les caractéristiques morphologiques maternelles (poids, taille). En 2001, (Mamelle et al. 2001) ont proposé une approche permettant d'ajuster les critères de retard de croissance intra-utérin sur les paramètres anthropométriques maternels et de tenir compte du « potentiel constitutionnel de croissance » du bébé. Un modèle de régression polynomiale multiple permet d'estimer le logarithme népérien (Ln) du poids de naissance attendu à partir de l'âge gestationnel, du sexe, du rang de naissance, de l'âge maternel, du poids et de la taille de la mère selon l'équation suivante :

$$\begin{aligned} \text{Ln}(\text{PN}^*) = & a_1 \text{AG} + a_2 \text{AG}^2 + a_3 \text{AG}^3 + b \text{S} + c_1 \text{RN} + c_2 \text{RN} + c_3 \text{RN} + \\ & d_1 \text{AM} + d_2 \text{AM}^2 + e_1 \text{PM} + e_2 \text{PM}^2 + e_3 \text{PM}^3 + \\ & f_1 \text{TM} + \text{constante} \end{aligned}$$

PN : poids de naissance, AG : âge gestationnel, S : sexe, RN : rang de naissance, AM : âge maternel, PM : poids maternel, TM : taille maternelle

La moyenne et l'écart-type $\text{SD}(\text{LnPN}^*)$ des poids de naissance attendus sont calculés et permettent de définir les bornes d'un intervalle de confiance à 95%, spécifique aux niveaux des différents cofacteurs du modèle. La borne inférieure de l'intervalle à 5% ($\text{LI}_{5\%}$) est égale à :

$$\text{LI}_{5\%}(\text{LnPN}^*) = (\text{LnPN}^*) - 1,64 \text{SD}(\text{LnPN}^*)$$

$$\text{LI}_{5\%}(\text{PN}^*) = \exp[(\text{LnPN}^*) - 1,64 \text{SD}(\text{LnPN}^*)]$$

Un bébé sera classé comme ayant une restriction de croissance intra-intra-utérine si :

$$\text{PN} < \text{LI}_{5\%}(\text{PN}^*)$$

Nous avons estimé les paramètres de ce modèle prédictif sur notre population d'étude, restreinte aux naissances uniques, sans malformation. La fonction obtenue est la suivante :

$$\begin{aligned} \text{Ln}(\text{PN}^*) = & 9,25291189 - 0,5695201 \cdot \text{AG} + 0,0244052 \cdot \text{AG}^2 - 0,0002818 \cdot \text{AG}^3 \\ & - 0,0359818 \cdot \text{S} \text{ (1=garçon)} + 0,0340569 \cdot \text{RN} - 0,0062930 \cdot \text{RN}^2 + 0,000750 \cdot \text{RN}^3 \\ & + 0,0080119 \cdot \text{PM} - 0,0000496 \cdot \text{PM}^2 + 0,000000064 \cdot \text{PM}^3 \\ & + 0,0024427 \cdot \text{TM} - 0,0001076 \cdot \text{AM} - 0,0000016 \cdot \text{AM}^2 \end{aligned}$$

PN : poids de naissance, AG : âge gestationnel, S : sexe, RN : rang de naissance, AM : âge maternel, PM : poids maternel, TM : taille maternelle

Elle a permis de définir les bébés dont le poids de naissance est inférieur au 5^{ème} percentile de la distribution du poids de naissance attendu chez des bébés ayant les mêmes caractéristiques prédictives (âge gestationnel, sexe, parité, poids, taille, âge de la mère). Pour notre étude, nous avons choisi d'utiliser cette mesure plus personnalisée du retard de croissance, plutôt que la mesure ne tenant compte que de l'âge gestationnel et du sexe.

Selon cette définition, **174 cas de bébés avec RCIU** ont été identifiés dans la cohorte, dont 18 (10%) étaient aussi nés prématurément.

III.2.3 Les facteurs associés au risque de RCIU dans la cohorte PELAGIE

Dans la cohorte PELAGIE (parmi les naissances vivantes, uniques, sans malformation majeure), nous avons observé une association significative entre le risque de RCIU et l'hypertension artérielle maternelle préexistante ou apparue pendant la grossesse (15% des femmes ayant donné naissance à un bébé avec restriction de croissance étaient atteintes d'hypertension artérielle, contre seulement 5% des femmes dans l'ensemble de la cohorte). Des facteurs socio-économiques tels que le statut marital et le niveau scolaire de la mère sont significativement associés au risque de RCIU : les femmes vivant seules et les femmes ayant arrêté leurs études au collège sont surreprésentées parmi les naissances avec RCIU. Les comportements à risques tels que la consommation de tabac ($P=0,001$) et d'alcool ($P=0,07$) sont significativement associés au risque de RCIU : 17,7% des femmes ayant donné naissance à un bébé avec RCIU fument plus de 10 cigarettes par jour en début de grossesse (contre 9,2% chez les autres femmes) et 4,1% boivent quotidiennement de l'alcool (contre 1,7%). L'âge maternel, le statut pondéral et la parité ne sont pas liés au risque de RCIU, Ces résultats sont présentés dans le Tableau 65, situé en Annexe B.

IV. Estimation de l'exposition prénatale aux SPCs dans la cohorte

PELAGIE

Dans cette étude, nous avons utilisé deux types de mesures de l'exposition aux SPCs pendant la grossesse. Ces mesures diffèrent :

- par les sous-produits mesurés : l'une utilise les THMs comme indicateurs de la quantité globale de SPCs, l'autre l'acide trichloroacétique (un des HAAs les plus présents)
- par le niveau de mesure : l'une reconstitue l'exposition aux THMs à l'aide de données environnementales pondérées par les usages personnels, l'autre utilise un biomarqueur urinaire,

IV.1 Estimation indirecte de l'exposition aux THMs via l'eau du robinet

Pour estimer l'exposition des femmes enceintes aux SPCs présents dans l'eau du robinet, nous avons reconstitué les différents éléments de l'exposition décrits dans le Chapitre I, Partie I.4.2.2 : le niveau environnemental de THMs dans les réseaux d'eau et les usages de l'eau déclarés par la femme enceinte dans les questionnaires.

IV.1.1 Estimation des niveaux de THMs dans les réseaux d'eau

- **La base SISE-Eaux**

Nous avons utilisé les mesures réglementaires de surveillance de l'eau répertoriées au niveau national dans la base SISE-Eaux (Système d'Information en Santé-Environnement sur les Eaux, Ministère des Affaires Sociales et de la Santé), ainsi que des données mensuelles complémentaires collectées par la Ville de Rennes, pour les habitantes de Rennes. La surveillance de la qualité de l'eau est pratiquée à trois stades du processus de traitement de l'eau potable : dans les eaux brutes, au point de mise en circulation, dans le réseau de distribution.

Le niveau qui nous intéresse est celui du réseau de distribution, car comme nous l'avons vu dans le premier chapitre, les SPCs sont absents des eaux brutes et les teneurs en SPCs évoluent (formation ou dégradation) entre la sortie d'usine et la distribution aux domiciles. Nous utiliserons donc les mesures faites au niveau des Unités de Distribution (UDI). Dans la base SISE-Eaux, une UDI se définit comme un réseau de distribution d'eau dont les caractéristiques en termes de type de source d'eau brute et de traitement sont homogènes.

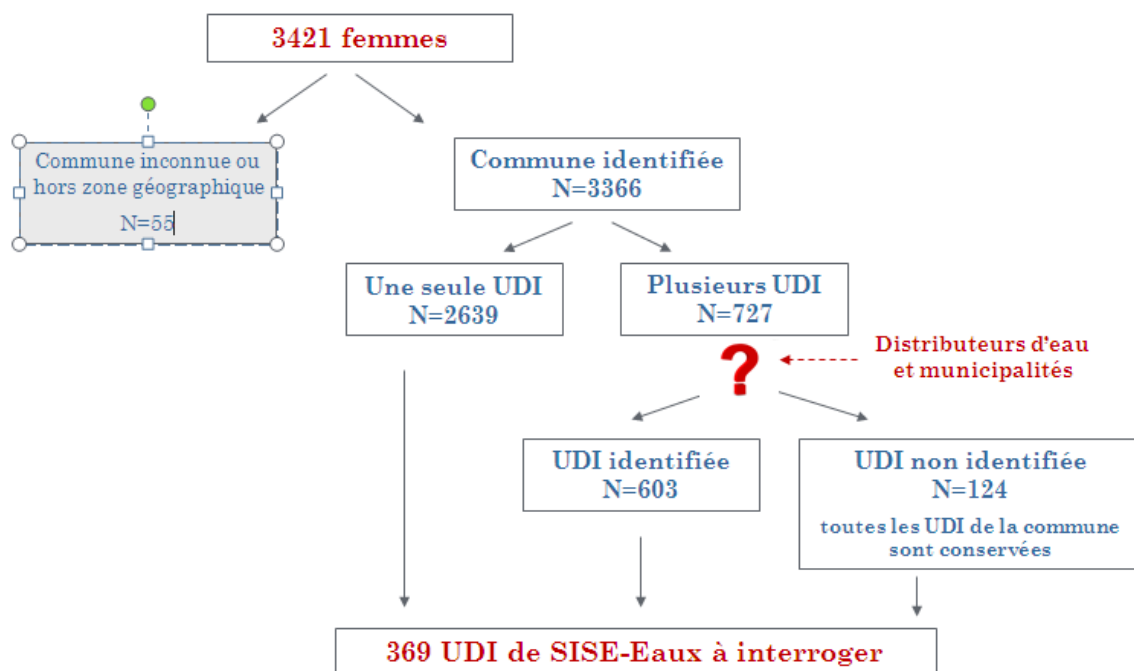
Les prélèvements et analyses répertoriés dans la base suivent une logique de surveillance sanitaire, régie par décret qui fixe les obligations des services de santé-environnement en matière de contrôle des eaux de boisson. Les fréquences de contrôle sont variables et sur un même réseau les points de prélèvement peuvent différer d'une fois à l'autre, ce qui rend impossible la dissociation entre variabilité géographique (temps de séjour hydraulique) et temporelle. D'autre part, nous avons été confrontés à une instabilité des unités statistiques de collecte des informations dans la base : des UDI peuvent s'agréger au cours du temps (les 2 UDI de Rennes ont par exemple fusionné en 2005) ou se désagréger (création d'UDI autonomes). Or, l'historique des UDI agrégées ne permet pas de re-séparer les mesures faites avant l'agrégation.

Concernant les SPCS, nous avons rappelé la réglementation en vigueur en France dans le chapitre II.2.4. Depuis 2004, les quatre THMs sont mesurés dans les UDI, à des fréquences très variables liées à la taille de la population desservie et au risque de dépassement de la limite, La commune de Rennes a commencé un suivi des THMs dans ses deux réseaux d'eau potable avant 2004 et a mis à notre disposition les mesures disponibles depuis 2002.

Au total, pour les 4 départements bretons concernés par la cohorte PELAGIE (22, 29, 35, 56), il existe dans SISE-Eaux 737 UDI, dont seulement 468 (64%) ont au moins une mesure de THMs entre 2002 et 2008 (interrogation mars 2009).

- **Attribution d'une UDI aux femmes de la cohorte PELAGIE**

Afin d'estimer le niveau de THMs environnemental au domicile des femmes de la cohorte, il a fallu identifier l'UDI (au sens de la base SISE-Eaux) desservant leurs domiciles. Dans le questionnaire d'inclusion, l'adresse exacte de la femme était demandée (commune, N° et rue). Pour les communes desservies par un seul réseau, la commune de résidence suffit pour identifier le réseau. Pour les communes approvisionnées par plusieurs UDI, il est indispensable de disposer de l'adresse précise des personnes et d'interroger les sociétés ou régies municipales gérant la distribution de l'eau potable. Nous avons ainsi contacté un certain nombre de sociétés distributrices d'eau (VEOLIA, SAUR, Lyonnaise des Eaux, ...), des syndicats des eaux, des communes ..., afin qu'ils identifient pour nous le code UDI correspondant aux adresses des personnes concernées. Pour certaines femmes de la cohorte qui n'ont fourni que leur commune de résidence, alors que celle-ci était desservie par plusieurs UDI, l'ensemble des UDI possibles pour la commune leur a été attribué (jusqu'à 6 UDI possibles pour 2 femmes de la cohorte).

Figure 18. Reconstitution de l'UDI de rattachement des femmes incluses dans la cohorte PELAGIE

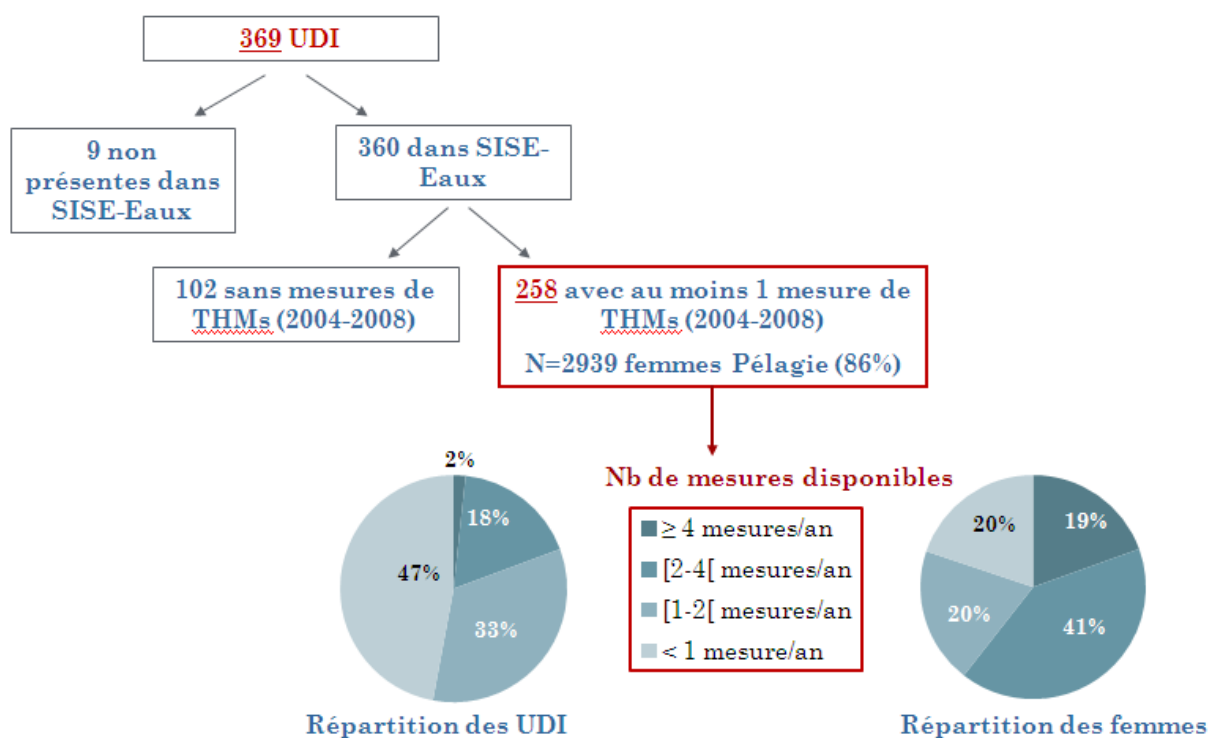
Au final, en tenant compte de toutes les UDI potentiellement concernées par les femmes de la cohorte PELAGIE, ce sont 369 UDI différentes pour lesquelles nous avons cherché les mesures de THMs disponibles dans la base SISE-Eaux. Le positionnement précis des domiciles des femmes sur chaque UDI n'a pas été pris en compte, de même que le positionnement du point de surveillance sur le réseau par rapport au domicile. Ces éléments n'étaient pas disponibles et auraient nécessité de cartographier chacun des 369 réseaux concernés, ce qui n'était pas réalisable dans le cadre de cette étude.

- **Disponibilité de mesures de THMs dans SISE-Eaux**

Après avoir identifié les UDI concernées par la cohorte PELAGIE, nous avons obtenu auprès de l'Agence Régionale de Santé de Bretagne l'accès aux mesures de THMs disponibles dans SISE-Eaux. Il s'est avéré que seulement 70% des UDI avaient au moins une mesure de THMs disponibles au cours de la période 2004-2008. Cela concernait 86% des femmes de la cohorte. Lorsque des mesures de THMs étaient disponibles, leur nombre était très variable d'une UDI à l'autre. Seulement 2% des UDI avaient une fréquence trimestrielle de mesure des THMs (4 mesures par an ou plus). Presque la moitié des UDI (47%) avaient moins d'une mesure par an, et 1/3 des UDI avaient 1 mesure par an. Du point de vue des femmes, qui se répartissent

inégalement entre les UDI, le déséquilibre est moins important : plus de la moitié des femmes (60%) résident sur des UDI pour lesquelles au moins 2 mesures par an étaient disponibles dans SISE-Eaux. Ces statistiques cachent cependant des situations contrastées entre les années de prélèvement.

Figure 19. Mesures disponibles dans la base SISE-Eaux en relation avec le domicile des femmes de la cohorte PELAGIE



- **Imputation des données manquantes de la base SISE-Eaux**

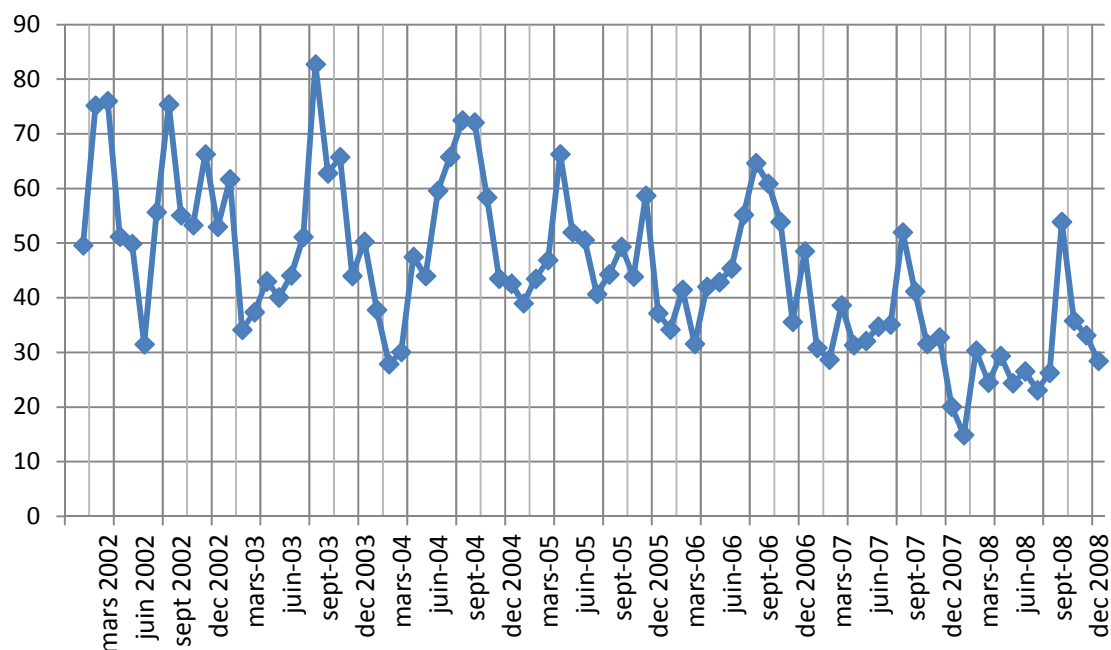
L'absence de mesures dans de nombreuses UDI a nécessité une interpolation à partir des données disponibles.

Mensualisation des données

L'unité statistique choisie pour les mesures de THMs a été le mois, car nous souhaitions pouvoir relier chacun des mois de grossesse à un niveau de THMs moyens dans le réseau d'eau potable. Lorsque plusieurs mesures de THMs ont été faites dans une UDI au cours d'un même mois (situation très rare, sauf à Rennes) ou en plusieurs points de l'UDI à une même date, nous avons agrégé les données disponibles par la moyenne afin d'avoir une valeur mensuelle unique.

Le graphique Figure 20 montre l'évolution des niveaux de THMs dans le réseau desservant la ville de Rennes.

Figure 20. Evolution des niveaux de TTHM dans le réseau d'eau desservant Rennes (2002-2008) (Source : Base SISE-Eaux et Ville de Rennes)



Imputation des données manquantes

Plusieurs stratégies d'imputation des données manquantes de la base de données ont été envisagées.

Prédiction des niveaux de THMs par d'autres facteurs associés

Conformément à la littérature présentée dans le chapitre II.3.5, nous aurions souhaité utiliser des modèles prédictifs intégrant les caractéristiques de l'eau répertoriées dans la base SISE-Eaux (teneur en COT, en chlore libre, pH, température, ...) pour estimer les niveaux de THMs manquants. L'estimation de ces modèles était possible avec les données disponibles dans SISE-Eaux, mais leur utilisation à des fins de prévision des valeurs manquantes s'est révélée impossible car pour la grande majorité des dates avec une mesure de THMs manquante, ces éléments prédictifs étaient aussi manquants (ils sont mesurés en même temps).

Extrapolation des séries temporelles de la Ville de Rennes

Les données auxquelles nous avons affaire dans la base SISE-Eaux sont des séries temporelles qui présentent une saisonnalité et une tendance potentielles. Les méthodes

statistiques les plus adaptées pour les étudier appartiennent donc aux domaines de l'analyse des séries temporelles (modèles ARIMA, modèles ARCH, modèles à espace d'états ...). Mais les données SISE-Eaux présentent un nombre de valeurs manquantes consécutives beaucoup trop important pour permettre de les mettre en œuvre. Pour la ville de Rennes, nous disposons d'une mesure mensuelle pour toute la période d'exposition couverte par PELAGIE (données complètes). Nous avons pu étudier cette série à l'aide d'un modèle à espace d'états, en collaboration avec le Pr, Michel Carbon (Université de Rennes 2 et ENSAI). La question de l'utilisation de ces résultats pour aider à l'extrapolation des données manquantes des autres UDI moins complètes s'est alors posée. Une idée était d'utiliser les estimateurs des tendances saisonnières et annuelle observées sur Rennes et de les appliquer au niveau de THMs moyen de chaque autre UDI aux données incomplètes. Mais cette solution s'est avérée rapidement contestable : les UDI de Rennes sont toutes alimentées par une eau de surface et la Ville de Rennes incite depuis fortement l'entreprise pourvoyeuse d'eau potable (VEOLIA) à limiter la production de SPCs, d'où une tendance à la décroissance des taux de THMs observée non extrapolable systématiquement aux autres communes de la cohorte PELAGIE.

Modélisation linéaire hiérarchique mixte

Nous avons finalement utilisé des modèles linéaires hiérarchiques mixtes pour imputer les données manquantes (Symanski et al. 2004), (Snijders and Bosker 1999), (Diggle et al. 1994). Pour toutes les UDI concernées par PELAGIE ayant au moins une mesure entre 2002 et 2006 (période d'exposition de la cohorte), les valeurs mensuelles manquantes ont été imputées. Les prédicteurs inclus dans le modèle sont le type de source d'eau (surface, mixte, profonde), le département et le mois de la mesure. La saisonnalité des niveaux de THMs n'étant pas la même selon le type de source d'eau, nous avons estimé séparément un modèle pour chaque type d'eau, plutôt que d'introduire une interaction entre le type d'eau et l'effet de la saison. Le département est une variable représentant une certaine homogénéité en termes de contexte géologique et météorologique. L'existence d'une tendance annuelle a été testée pour les réseaux dont les données étaient complètes (données mensuelles entre 2002 et 2008) (les 2 réseaux desservant Rennes) et les réseaux présentant au moins une mesure en saison haute et une mesure en saison basse pendant plusieurs années. Les mesures faites après la période d'inclusion des femmes dans la cohorte (2006-2008) ont été utilisées pour augmenter le nombre de données utilisées et stabiliser les estimations des modèles. Comme aucune tendance annuelle n'a été mise en évidence entre 2002 et 2006, nous n'avons finalement pas introduit de termes d'interaction entre le mois et

l'année dans les modèles prédictifs : l'effet de saisonnalité a donc été considéré comme constant au cours des années 2002 à 2006.

L'intérêt de l'utilisation de modèles mixtes est de perdre en compte toutes les UDI, y compris celles comportant des mesures manquantes. Les UDI contribuent à l'estimation du modèle à la hauteur du nombre de leurs valeurs disponibles. Cependant, cela ne fonctionne que lorsque les données sont incomplètes au hasard (« Missing At Random »), ce qui n'est très probablement pas le cas pour les données de la base SISE-Eaux car les mois les plus à risque de fortes valeurs de THMs sont ceux pour lesquels il y a le plus de mesures. Une valeur manquante a donc a priori plus de chances d'être une valeur faible de THMs qu'une valeur haute.

Nous avons modélisé chacun des composants des THMs (4 produits) séparément, ainsi que leur somme. L'approche par modèles hiérarchiques mixtes est présentée ici pour le total des 4 THMs:

Soit THM_{it} la concentration en THM de l'UDI i à la date t (moyenne mensuelle du mois t), Deux niveaux de mesure peuvent être considérés :

- 1^{er} niveau = temps (mois de l'année) (indice t)
- 2^{ème} niveau = UDI (indice i)

Le temps et les caractéristiques des UDI sont considérés comme des effets fixes. Les caractéristiques de l'UDI considérées sont le type de source d'eau qui l'alimente et le département auquel elle appartient. L'UDI sera considéré comme un effet aléatoire (modèle avec ordonnée à l'origine aléatoire).

Le modèle hiérarchique vide (sans cofacteur) s'écrit :

$$\begin{array}{ccc}
 & \text{Moyenne de l'UDI } i & \text{Variance intra-udi (temps)} \\
 & \swarrow & \downarrow \\
 THM_{it} = \beta_{0i} + r_{it} & & r_{it} \approx N(0; \sigma^2) \\
 & \nwarrow & \\
 \beta_{0i} = \gamma_{00} + u_{0i} & & u_{0i} \approx N(0; \tau_{00}) \\
 \uparrow \quad \uparrow & & \uparrow \\
 \text{Estimateur commun} & \text{Ecart de l'UDI } i \text{ à la} & \text{Variance inter-udi} \\
 \text{de la moyenne de} & \text{moyenne générale} & \\
 \text{toutes les UDI} & &
 \end{array}$$

L'estimation du modèle vide permet d'estimer la part relative des variances intra-UDI et inter-UDI dans la variance totale des niveaux de THMs. Le coefficient de corrélation intra-classe

(ICC), égal à $\frac{\tau_{00}}{\tau_{00} + \sigma^2}$, indique ici le degré de ressemblance des mesures au sein de chaque UDI.

Tableau 49. Variance inter- et intra-UDI des concentrations en TTHM des eaux distribuées (modèle vide)

	Eau profonde	Eau de surface	Eau mixte
Variance inter-UDI	158,2	127,7	318,2
Variance intra-UDI	381,2	266,9	247,4
ICC*	29,3%	32,4%	56,3%

Abbreviations: TTHM: THM total (somme des 4 THMs composés) ; UDI : unité de distribution d'eau

* ICC : Coefficient de corrélation intraclasse égal au ratio variance inter/ (variance totale+intra)

De manière inattendue, on observe ici la plus faible variabilité inter-UDI pour les eaux profondes, ce qui signifie qu'il y a plus de ressemblance entre des mesures de THMs faites dans des UDI différentes à une même date qu'entre des mesures à différents moments au sein d'une même UDI. La situation des eaux de surface est assez proche de celle des eaux profondes, ce qui est étonnant. Ce sont les eaux mixtes qui présentent le plus de variabilité temporelle en regard de la variabilité inter-UDI et non les eaux de surface (comme on aurait pu s'y attendre).

En ajoutant des éléments explicatifs au niveau 1 (le mois de la mesure) et au niveau 2 (le département de l'UDI), le modèle s'écrit :

$$\begin{cases}
 \text{THM}_{it} = \beta_{0i} + \sum_{t=1}^{11} \beta_{1t} \cdot I(t) + r_{it} & r_{it} \approx N(0; \sigma^2) \\
 \beta_{0i} = \gamma_{00} + \gamma_{01} \text{dep} + u_{0i} & u_{0i} \approx N(0; \tau_{00})
 \end{cases}$$

$\text{THM}_{it} = \underbrace{\gamma_{00} + \gamma_{01} \text{dep} + \sum_{t=1}^{11} \beta_{1t} \cdot I(t)}_{\text{Partie fixe}} + \underbrace{r_{it} + u_{0i}}_{\text{Partie aléatoire}}$

Indicatrice du mois (pointant vers $I(t)$)

Il permet d'estimer les effets moyens du temps sur le niveau de THMs dans les réseaux, présentés dans le Tableau 50.

Tableau 50. Estimations des niveaux mensuels moyens de TTHM (effets fixes) par modèles linéaires hiérarchiques mixtes *

Effets fixes	Eaux de surface	Eaux profondes	Eaux mixtes
Janvier	50,8 (3,3)	38,0 (6,4)	41,4 (6,4)
Février	46,6 (3,0)	29,4 (5,1)	39,0 (6,4)
Mars	45,3 (2,9)	33,1 (4,9)	44,2 (5,4)
Avril	48,9 (2,9)	36,3 (5,6)	41,9 (5,1)
Mai	51,8 (3,1)	28,1 (5,9)	41,4 (5,3)
Juin	52,9 (3,0)	45,3 (5,0)	47,3 (5,1)
Juillet	54,8 (3,4)	35,9 (5,3)	46,2 (5,2)
Août	62,2 (3,3)	55,2 (8,1)	46,0 (5,4)
Septembre	63,4 (2,6)	41,6 (4,0)	47,1 (7,1)
Octobre	59,9 (2,8)	30,8 (4,2)	43,9 (5,2)
Novembre	53,1 (2,9)	37,9 (4,2)	48,3 (4,9)
Décembre	51,6 (2,9)	17,5 (5,5)	48,8 (5,7)
Effets aléatoires			
Niveau 2 (variance inter-UDI)	109,9	134,9	296,9
Niveau 1 (variance intra-UDI)	236,4	335,5	249

Abbreviations: TTHM: THM total (somme des 4 THMs composés) ; UDI : unité de distribution d'eau

** Estimation (erreur standard)*

Nous avons validé les modèles sur la base des RMSE (Root Mean Square Errors). Sur l'ensemble des UDI incluses dans les modèles, le RMSE est de 14,8 µg/L pour le total des THMs, 5,5 µg/L pour le bromoforme, 7,4 µg/L pour le chloroforme, 4,9 µg/L pour le DBCM et 4,8 µg/L pour le BDCM. En ne considérant que l'UDI pour laquelle les valeurs étaient toutes connues (Rennes), les RMSE sont de 7,4 µg/L pour le total des THMs, 1,4 µg/L pour le bromoforme, 4,2 µg/L pour le chloroforme, 1,6 µg/L pour le DBCM et 3,3 pour le BDCM. Les résidus des modèles ne respectent pas une distribution normale stricte et de fortes valeurs (positives ou négatives) sont observées, indiquant de mauvaises prédictions pour certaines dates et THMs. Cela est particulièrement le cas pour les eaux profondes pour lesquelles les modèles s'ajustent moins bien. Des écarts plus importants sont aussi observés en saison haute (Tableau 51).

Tableau 51. RMSE (en µg/L) des estimations des niveaux mensuels de THMs dans les réseaux par modèles linéaires hiérarchiques mixtes, selon la saison et le type d'eau

		Nb de mesures	TTHM	BRF	CLF	DBCM	BDCM
Ensemble		1478	14,8	5,5	7,4	4,9	4,8
Saison	basse	610	13,2	4,3	7,2	4,4	4,4
	moyenne	359	14,1	4,8	5,7	5,1	4,6
	haute	509	17,1	7,1	8,7	5,4	5,3
Type d'eau	mixte	407	14,0	4,8	6,9	5,0	4,8
	profonde	240	16,7	9,3	5,2	5,4	4,1
	surface	831	14,7	4,3	8,2	4,8	4,9

Abbréviations: RMSE : root mean square error; TTHM : total des 4 trihalométhanes (THM); CLF: chloroforme; BRF : bromoforme; DBCM : dibromochlorométhane; BDCM : bromodichlorométhane

Des tentatives d'utilisation de matrices de variance-covariance structurées différemment (AR1, Toeplitz, par exemple) n'ont pas permis d'améliorer les ajustements, probablement du fait du faible nombre de valeurs consécutives disponibles dans les mesures de la base SISE-Eaux.

Le Tableau 52 présente les niveaux moyens de THMs observés et complétés par modélisation dans les 258 UDI desservant les domiciles des femmes de la cohorte PELAGIE. Le niveau moyen de THMs estimé est de 41,6 µg/L. Les 4 composés sont présents de manière assez équilibrée dans le mélange de THMs, avec une concentration en DBCM légèrement supérieure. Le mélange est largement dominé par les composés bromés. Les tendances attendues en termes de niveaux associés au type de source d'eau sont confirmées : les eaux de surface présentent un niveau moyen de THMs plus élevé que les eaux profondes ou mixtes. Nous retrouvons aussi les tendances saisonnières rapportées dans la littérature dans les pays tempérés, avec des concentrations plus élevées en fin d'été et à l'automne.

Tableau 52. Distribution du niveau de THMs dans les 258 UDI desservant les domiciles de femmes de la cohorte PELAGIE, données SISE-Eaux et modélisation (2002-2006)^a

	% des UDI ^b	% des femmes ^c	TTHM	CLF	BRF	DBCM	BDCM
			Moyenne (écart-type), µg/L				
Toutes UDI			41,6 (16,1)	9,3 (7,0)	8,2 (5,7)	13,8 (5,5)	10,4 (5,4)
Source d'eau							
Eau profonde	19,3	14,2	30,1 (15,5)	3,8 (3,2)	10,5 (7,5)	10,4 (6,1)	5,5 (3,7)
Eau mixte	32,8	26,8	37,4 (16,3)	8,0 (6,8)	8,4 (5,6)	12,2 (5,3)	9,0 (5,1)
Eau de surface	47,9	59,1	49,1 (11,8)	12,5 (6,5)	7,0 (4,4)	16,2 (4,0)	13,4 (4,2)
Département							
Côtes d'Armor	38,2	28,0	39,1 (16,8)	9,3 (5,9)	7,1 (4,1)	13,1 (5,9)	9,6 (5,7)
Ille et Vilaine	32,8	62,4	44,8 (15,7)	9,4 (7,0)	9,0 (5,8)	15,2 (5,2)	11,3 (5,4)
Finistère	29,0	9,6	41,3 (14,8)	9,3 (8,3)	8,6 (7,0)	13 (4,9)	10,4 (4,8)
Saison							
Novembre-Mars	-	-	38,7 (15,4)	9,5 (6,9)	6,7 (4,8)	12,6 (5,2)	10,0 (5,2)
Avril-Juin	-	-	40,4 (14,7)	8,2 (6,1)	8,0 (4,8)	14,1 (5,2)	10,1 (4,8)
Juillet-Octobre	-	-	46,0 (16,8)	9,9 (7,6)	10,0 (6,7)	15,1 (5,7)	11,1 (6,0)

Abbreviations: TTHM : total des 4 trihalométhanes (THM); CLF: chloroforme; BRF : bromoforme; DBCM : dibromochlorométhane; BDCM : bromodichlorométhane ; UDI : unité de distribution d'eau

^a 258 UDI avec au moins une mesure de THMs dans les années 2002 à 2006; Les données manquantes ont été imputées par des modèles linéaires hiérarchiques mixtes

^b Distribution en % des 258 UDIs

^c Distribution en % des 2931 femmes pour lesquelles une UDI ou plusieurs UDI ont été affectées à leur domicile

- **Estimation du niveau de THMs environnemental pendant la grossesse**

Nous avons estimé l'exposition des femmes enceintes au cours de chacun des trimestres de la grossesse. Pour cela, nous avons identifié les dates définissant les bornes des 3 trimestres : (la date de début de grossesse est notée DDG)

1^{er} trimestre = [DDG ; DDG + 91 jours[

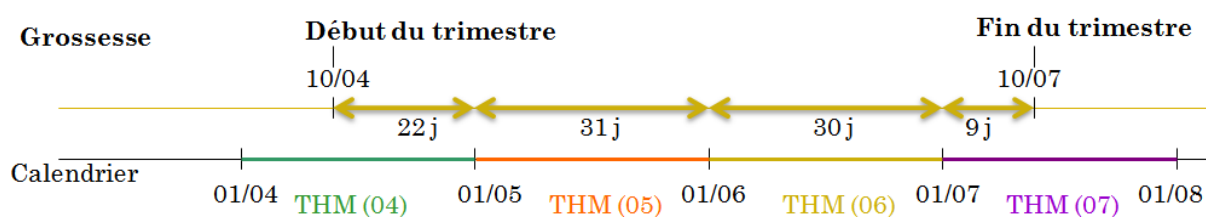
2^{ème} trimestre = [DDG + 91 jours; DDG + 182 jours[

3^{ème} trimestre = [DDG + 182 jours ; naissance]

Quatre femmes ont accouché très prématurément avant la fin du deuxième trimestre (à 25, 26 et 27 semaines d'aménorrhée). Pour les autres femmes, la durée du 3^{ème} trimestre dépend du terme d'accouchement. Elle varie de 29 à 42 semaines d'aménorrhée.

Le niveau moyen de THMs présent dans le réseau desservant le domicile de la femme enceinte est calculé comme une somme pondérée des niveaux de THMs estimés au cours des mois calendaires concernés par le trimestre de grossesse. La pondération correspond au nombre de jours de chaque mois calendaire couverts par la grossesse. La Figure 21 montre un exemple de calcul du niveau de THMs moyen dans le réseau pour un trimestre de grossesse entamé le 10 avril et terminé le 10 juillet. Quatre mois calendaires sont couverts par ce trimestre (avril, mai, juin, juillet) dont les poids respectifs sont 22 jours, 31 jours, 30 jours et 9 jours.

Figure 21. Calcul de l'exposition au TTHM (réseau) au cours d'un trimestre de grossesse



$$Expo(T) = \sum_{i=1}^4 THM_{(i)} \times d_{(i)},$$

où $d_{(i)}$: nb de jours du mois i couverts par le trimestre de grossesse / nb de jours du mois i

THM $_{(i)}$: niveau de TTHM moyen estimé dans l'UDI au cours du mois i ($\mu\text{g/L}$)

T : trimestre de grossesse concerné

Nous avons ainsi estimé le niveau moyen de THMs présents dans l'eau du réseau desservant le domicile au cours des 3 trimestres de grossesse de chaque femme ($\mu\text{g/L}$). Les femmes pour lesquelles le réseau de distribution n'a pu être identifié ou pour lesquelles aucune mesure n'était disponible dans la base SISE-Eaux ($N=379$; 11,7%) n'ont pu être incluses dans les analyses utilisant l'estimation du niveau de THMs dans l'eau.

Distribution des niveaux de THMs résidentiels dans la cohorte PELAGIE

Le Tableau 53 présente les niveaux de THMs résidentiels moyens estimés pour les 3 trimestres de grossesse des femmes de la cohorte PELAGIE pour lesquelles les dates de grossesse et des mesures de THMs étaient disponibles dans la base de données SISE-Eaux (soit 88,4% des 3223 femmes ayant donné naissance à un bébé vivant, unique, sans malformation majeure).

Tableau 53. Distribution des niveaux d'exposition environnementale aux THMs (niveaux moyens de THMs estimés dans les réseaux d'eau), par composés et trimestres de grossesse ($\mu\text{g/L}$) **

THM _ trimestre d'exposition *	Moyenne (écart-type)	Amplitude	1 ^{er} quartile	médiane	3 ^{ème} quartile
THM_T1	46,8 (12,8)	[3,7-87,1]	37,9	48,1	56,3
THM_T2	46,5 (12,9)	[6,4-81,6]	37,8	47,7	55,8
THM_T3	46,4 (12,9)	[5,6-83,2]	37,8	47,6	55,8
CLF_T1	10,8 (6,1)	[0,0-41,3]	5,8	10,4	15,2
CLF_T2	10,8 (6,2)	[0,0-37,2]	5,9	10,4	15,1
CLF_T3	10,6 (6,2)	[0,0-36,6]	6,1	10,2	14,6
BRF_T1	8,2 (4,4)	[0,0-36,3]	5,1	7,3	10,4
BRF_T2	8,1 (4,4)	[0,0-35,1]	5,1	7,3	10,2
BRF_T3	8,2 (4,4)	[0,0-36,6]	5,1	7,2	10,3
DBCM_T1	15,5 (4,3)	[1,0-30,2]	13,1	15,7	18,4
DBCM_T2	15,3 (4,4)	[1,5-30,3]	13,0	15,6	18,4
DBCM_T3	15,4 (4,4)	[1,2-30,1]	13,0	15,6	18,3
BDCM_T1	12,4 (5,1)	[0,0-24,0]	8,9	12,9	16,0
BDCM_T2	12,3 (5,0)	[0,3-24,5]	9,1	12,8	15,9
BDCM_T3	12,3 (5,0)	[0,3-24,8]	9,1	12,8	15,8

* THM : THM total (somme des 4 composés), CLF : chloroforme ; BRF : bromoforme ; DBCM : dibromochlorométhane ; BDCM : bromodichlorométhane ; T1 : 1^{er} trimestre ; T2 : 2^{ème} trimestre ; T3 : 3^{ème} trimestre

** N=2852 pour les 2 premiers trimestres, N=2848 pour le 3^{ème} trimestre

Les moyennes des niveaux d'exposition au cours des 3 trimestres sont très peu différentes. La corrélation (Spearman) des niveaux de TTHM entre 2 trimestres consécutifs est supérieure à 0,75. Au niveau individuel, la valeur médiane de la différence absolue entre le niveau d'exposition au cours de 2 trimestres consécutifs est de 5,6 [0-30,4] pour les 2 premiers trimestres, de 5,2 [0-35,3] pour les 2 derniers trimestres et de 7,2 [0-39,2] pour les 2 trimestres extrêmes.

IV.1.2 Les usages de l'eau par les femmes enceintes

Les usages de l'eau du robinet par les femmes enceintes ont été collectés par questionnaire à l'inclusion, en début de grossesse et dans le questionnaire du suivi à 2 ans.

- **L'ingestion**

En ce qui concerne l'ingestion d'eau du robinet, le questionnaire d'inclusion permet de connaître la quantité d'eau totale bue par jour et le pourcentage de cette eau provenant d'eau embouteillée. La quantité quotidienne d'eau du robinet bue peut en être déduite. Pour cela, les catégories proposées pour le volume d'eau bue ont été converties en litres, afin d'y appliquer ensuite le pourcentage provenant du robinet :

Catégorie	Volume
Moins d' ½ L	0,5 L
½ L à 1 L	1 L
1 à 2 L	1,5 L
2 L et plus	2 L

Les boissons chaudes à base d'eau sont aussi répertoriées (café, thé) en nombre de tasses bues par jour. Nous avons fait l'hypothèse qu'elles étaient entièrement préparées à base d'eau du robinet. Le nombre de tasses a été converti en litres : une tasse de café a été supposée contenir 0,10 litre, une tasse de thé 0,20 litre. L'équivalence quantité-fréquence est la suivante :

	<1tasse / jour	1tasse / jour	2-3 tasses / jour	≥4 tasses / jour
Café	0	0,10 litre/jour	0,25 litre/jour	0,50 litre/jour
Thé	0	0,20 litre/jour	0,50 litre/jour	1 litre/jour

Un coefficient de réduction de la quantité de THMs de 0,3 a été appliqué pour les boissons chaudes pour tenir compte de l'effet réducteur de l'ébullition sur la quantité de THMs

dans l'eau que nous avons présenté dans le Chapitre 1, Partie III.1.1. Nous avons donc considéré que 70% des THMs étaient volatilisés lors du chauffage de l'eau (Dodds et al. 2004).

Tableau 54. Distribution des quantités de boissons ingérées (/jour) en début de grossesse par les femmes de la cohorte PELAGIE (N=2223)

	<1 tasse	1 tasse	2-3 tasses	≥4 tasses	Manquant
Café (tasses)	1769 (54,8%)	601 (18,6%)	702 (21,8%)	142 (4,4%)	(0,4%)
Thé (tasses)	2182 (67,6%)	517 (16,0%)	413 (12,8%)	83 (2,6%)	31 (1,0%)
Eau (total)	<½ litre 284 (8,8%)	½ l à 1 litre 1636 (50,7%)	1 à 2 litres 1239 (38,4%)	≥ 2 litres 60 (1,9%)	Manquant 7 (0,2%)

Le pourcentage d'eau froide bue provenant du robinet est faible dans la cohorte. 40,2% des femmes déclarent ne boire que de l'eau en bouteille. Parmi les femmes qui boivent de l'eau du robinet, le volume médian ingéré est de 0,20 L/jour (intervalle interquartile = [0,10-0,40]). Nous avons considéré que tous les domiciles de la cohorte PELAGIE étaient reliés aux réseaux de distribution d'eau potable, l'utilisation de puits individuels étant très marginale (dans le suivi à 2 ans, seules 0,7% des femmes (N=11) déclaraient boire de l'eau provenant d'un puits privé). 36% des femmes déclarent ne boire ni café ni thé et 16,6% des femmes ne consomment aucune eau du robinet pour boire (eau de boisson, thé ou café). La part que représentent les boissons chaudes dans le volume d'eau ingéré quotidiennement est en moyenne de 46% (médiane =38%).

La quantité de THMs ingérée quotidiennement en moyenne, au cours de chaque trimestre, est calculée selon la formule :

$$\text{THMs ingérés } (\mu\text{g/jour}) = \text{niveau moyen de THMs dans le réseau d'eau potable} \times [\text{volume d'eau froide du robinet} + 0,3 \times \text{volume d'eau chaude}]$$

• Les bains et les douches

Les informations sur les bains et les douches n'étaient pas disponibles dans le questionnaire d'inclusion, de même que celles sur la fréquentation de piscine (en dehors d'une question binaire sur la pratique de la natation - oui/non). Le questionnaire du suivi à 2 ans (sous-cohorte de 1505 femmes) a permis de collecter la fréquence et la durée des douches et des bains,

ainsi que la fréquence et la durée de fréquentation de piscines couvertes découvertes au cours de la grossesse PELAGIE. Les informations sur les voies d'exposition autres que l'ingestion étaient donc disponibles pour un nombre restreint de femmes par rapport à la voie d'exposition par ingestion,

Le nombre médian de douches par semaine est égal à 7, 49% des femmes déclarant prendre précisément une douche quotidienne, La durée médiane des douches est de 10 minutes, variant de 5 à 30 minutes. Peu de femmes prennent des bains (61,3% n'en prennent jamais). Parmi celles qui en prennent, la fréquence médiane est de 1 bain par semaine, d'une durée médiane de 20 minutes.

L'exposition quotidienne aux THMs via les douches et les bains (en $\mu\text{g}/\text{jour}$) a été calculée comme la somme des temps moyens passés sous la douche et dans le bain, multipliée par le niveau de THMs estimé dans le réseau pendant le trimestre de grossesse donné, selon la formule :

$$\begin{aligned} \text{THMs provenant des douches et des bains } (\mu\text{g}/\text{L} \times \text{min}/\text{jour}) = \\ \text{niveau moyen de THMs dans le réseau d'eau potable} \\ \times [\text{nombre} \times \text{durée des douches} + \text{nombre} \times \text{durée des bains}] \end{aligned}$$

• La fréquentation de la piscine

Dans le questionnaire d'inclusion, seules 1820 femmes (56,4%) ont répondu à la question binaire sur la fréquentation de la piscine et 32,5% d'entre elles affirmaient fréquenter la piscine en début de grossesse. Le questionnaire à 2 ans interroge rétrospectivement les femmes sur la fréquentation de la piscine au cours de chacun des trimestres de grossesse. Elles étaient 41,4% (1^{er} trimestre), 44,6% (2^{ème} trimestre) et 40,3% (3^{ème} trimestre) à fréquenter la piscine (sur 1440 femmes répondant à ces questions). La durée médiane des séances était de 50 minutes pour les 3 trimestres. Une durée moyenne quotidienne de bain dans une piscine a été estimée en pondérant le nombre de séances quotidiennes par la durée moyenne des séances :

$$\begin{aligned} \text{Durée de fréquentation de piscines (minutes/jour)} = \\ \text{nb de séances} \times \text{durée moyenne des séances} \end{aligned}$$

Nous n'avons pas utilisé de mesures des niveaux de THMs présents dans les piscines fréquentées par les femmes de la cohorte au cours de leur grossesse. Dans le questionnaire d'inclusion, la piscine fréquentée n'était pas indiquée, cette information était présente dans le questionnaire du suivi à 2 ans, mais les niveaux de THMs dans les piscines concernés n'ont pas été mesurés.

IV.1.3 L'estimation des doses internes de THMs

A partir des estimations des quantités de THMs ingérés et présentes dans les bains et douches et bains en piscine, nous avons estimé la dose interne en THMs correspondante dans l'organisme des femmes en appliquant des coefficients spécifiques à la voie d'exposition et au composé (chloroforme versus composés bromés). Nous avons repris les coefficients utilisés par (Villanueva et al. 2007b), (Savitz et al. 2006) et (Hoffman et al. 2008b) à la suite des travaux de (Backer et al. 2000), (Lynberg et al. 2001) et (Whitaker et al. 2003b).

Tableau 55. Coefficients de passage dans le sang des THMs selon les voies d'exposition et le type de THM (d'après (Villanueva et al. 2007b))

THM	Voie d'exposition			
	Ingestion	Douches	Bains	Piscine
	$\mu\text{g}/\mu\text{g}/\text{L}$	$\mu\text{g}/\text{min}/\mu\text{g}/\text{L}$	$\mu\text{g}/\text{min}/\mu\text{g}/\text{L}$	$\mu\text{g}/\text{min}/\mu\text{g}/\text{L}$
Chloroforme	0,00490196	0,001536261	0,001320755	0,002541407
Composés bromés (BRF, DBCM, BDCM)	0,00111848	0,001352065	0,00129571	0,0022367211

THM : BRF : bromoforme ; DBCM : dibromochlorométhane ; BDCM : bromodichlorométhane ; T1 : 1^{er} trimestre ; T2 : 2^{ème} trimestre ; T3 : 3^{ème} trimestre

Il est donc possible pour chaque voie et chaque composé d'estimer la quantité de THMs présente dans le sang quotidiennement du fait de l'usage d'eau du robinet chlorée (et de la baignade en piscine) (exprimée en $\mu\text{g}/\text{jour}$). Une dose interne totale en THMs, toutes voies d'exposition confondues peut être calculée en faisant la somme des 4 voies d'exposition.

Le Tableau 56 présente la distribution des doses internes quotidiennes provenant des différentes voies d'exposition à l'eau du robinet chlorée, estimées au cours du 1^{er} trimestre de grossesse. On remarque que la dose interne totale en THMs est très majoritairement déterminée par la voie d'exposition par les douches et les bains. Le ratio médian de cette source dans l'exposition totale est de 96,4%.

Tableau 56. Distribution des doses internes quotidiennes moyennes de THMs, par composés et voies d'exposition au cours du 1^{er} trimestre de grossesse (µg/jour)

Voie d'exposition	SPC	N	Moyenne (écart-type)	Amplitude	1 ^{er} quartile	médiane	3 ^{ème} quartile
Ingestion	TTHM	2801	0,022 (0,032)	[0-0,292]	0,004	0,011	0,027
	CLF	2801	0,013 (0,021)	[0-0,191]	0,001	0,006	0,015
	BRF	2801	0,002 (0,003)	[0-0,036]	0,000	0,001	0,002
	DBCM	2801	0,004 (0,005)	[0-0,042]	0,001	0,002	0,005
	BDCM	2801	0,003 (0,005)	[0-0,048]	0,001	0,002	0,004
Douches et bains	TTHM	1240	0,633 (0,409)	[0-4,151]	0,349	0,545	0,810
	CLF	1240	0,156 (0,136)	[0-1,231]	0,060	0,122	0,218
	BRF	1240	0,110 (0,089)	[0-0,810]	0,052	0,085	0,145
	DBCM	1240	0,207 (0,136)	[0-1,531]	0,114	0,179	0,258
	BDCM	1240	0,162 (0,122)	[0-1,074]	0,075	0,135	0,215
Piscine	TTHM	1416	0,020 (0,049)	[0-0,714]	0,000	0,000	0,018
	CLF	1416	0,006 (0,013)	[0-0,196]	0,000	0,000	0,005
	BRF	1416	0,005 (0,012)	[0-0,173]	0,000	0,000	0,004
	DBCM	1416	0,005 (0,012)	[0-0,173]	0,000	0,000	0,004
	BDCM	1416	0,005 (0,012)	[0-0,173]	0,000	0,000	0,004
Total	TTHM	1193	0,676 (0,423)	[0,061-4,415]	0,378	0,591	0,864
	CLF	1193	0,171 (0,143)	[0-1,240]	0,068	0,133	0,237
	BRF	1193	0,118 (0,091)	[0-0,812]	0,058	0,094	0,152
	DBCM	1193	0,216 (0,139)	[0,013-1,592]	0,119	0,189	0,266
	BDCM	1193	0,170 (0,125)	[0,002-1,134]	0,083	0,141	0,226

* THM : THM total (somme des 4 composés), CLF : chloroforme ; BRF : bromoforme ; DBCM : dibromochlorométhane ; BDCM : bromodichlorométhane

IV.2 Une mesure directe de l'exposition aux SPCs par biomarqueur (l'acide trichloroacétique dans les urines maternelles)

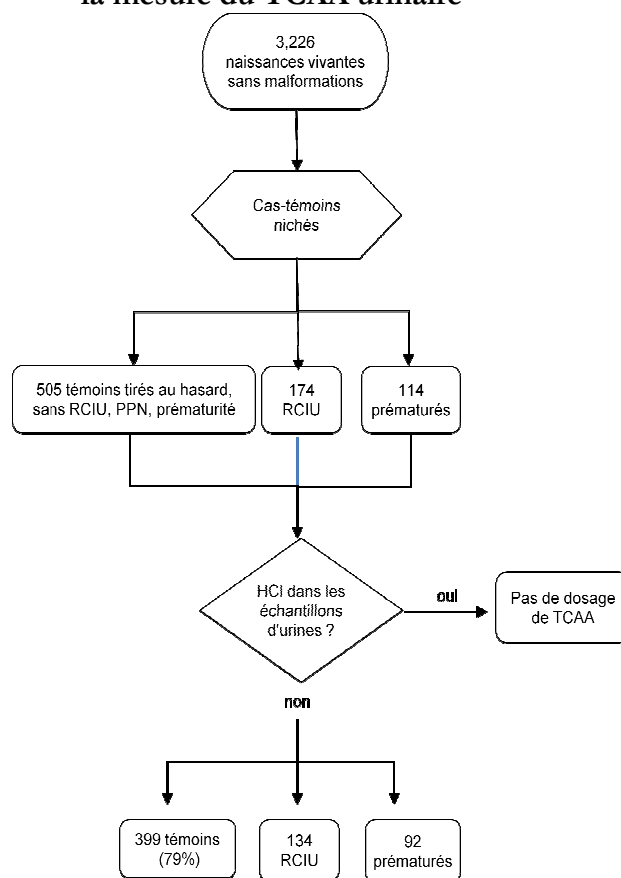
Nous avons pu dans notre étude utiliser une méthode directe d'estimation de l'exposition des femmes enceintes au cours de leur grossesse en dosant un certain nombre de biomarqueurs urinaires, dont l'acide trichloroacétique. Du fait de son coût important, le dosage de biomarqueurs n'a pas été possible pour l'ensemble de la cohorte et a été mis en œuvre sur un sous-échantillon de la cohorte PELAGIE, selon un design d'étude « cas-témoins nichée » décrit ci-après.

IV.2.1 Les études cas-témoins nichées dans la cohorte PELAGIE

Un échantillon de 505 témoins a été tiré dans la cohorte des naissances vivantes, uniques, sans malformations congénitales majeures, exemptes des issues de grossesse défavorables suivantes : restriction de croissance intra-utérine, petit poids de naissance par rapport à l'âge gestationnel, petit poids de naissance (<2500 g). Cet échantillon-témoin a été constitué pour servir de groupe de référence dans différentes études cas-témoins de différentes issues de grossesse, dans lesquelles tous les cas de la cohorte étaient sélectionnés. Des calculs de puissance a priori avaient indiqué qu'environ 500 témoins étaient nécessaires pour montrer un doublement de risque de RCIU, avec une exposition de 10% des témoins et une puissance au moins égale à 80% (pour un risque alpha de 5%). Dans cette étude, nous nous intéressons aux cas de prématurité et de RCIU.

Lors des premières inclusions dans la cohorte (jusqu'en février 2003), les échantillons d'urine ont été stabilisés à l'aide d'acide chlorhydrique, ce qui les a rendus inexploitable pour un dosage de TCAA. A partir de février 2003, l'acide nitrique a remplacé l'acide chlorhydrique. Au final, le TCAA urinaire a pu être dosé pour seulement 134 cas de restriction de croissance (77% des cas) et 92 de naissances prématurées (79% des cas) et 399 témoins (79% des témoins). La Figure 22 récapitule l'évolution des données disponibles pour les 2 études cas-témoins.

Figure 22. Evolution des effectifs disponibles pour les analyses impliquant la mesure du TCAA urinaire



IV.2.2 Le dosage du TCAA urinaire (aspects techniques)

Les urines analysées sont celles envoyées par les femmes dans les jours suivant leur inclusion, en début de grossesse. Il s'agit des premières urines du matin (tube de 20 ml), envoyées par la poste à température ambiante et stockées au laboratoire à -20°C. A partir de février 2003, les échantillons d'urine ont été stabilisés avec de l'acide nitrique.

Le TCAA a été dosé par le laboratoire de Toxicologie et Génomopathologie du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille. Les techniciens ont analysé les échantillons en aveugle, sans connaître le statut de cas ou de témoins des échantillons. Le TCAA urinaire a été dosé par chromatographie couplée à de la spectrométrie de masse. La méthode, décrite par (Dehon et al. 2000), présente un coefficient de variation inférieur à 5% à 0,10 mg et une limite de détection de 0,01 mg/L.

V. Méthodes statistiques

Les risques de prématurité et de restriction de croissance intra-utérine ont été modélisés à l'aide de régressions logistiques non-conditionnelles. Les facteurs de risque et les facteurs de confusion potentiels ont été identifiés à partir de la littérature. Pour chaque issue de grossesse, nous avons conservé dans les modèles les facteurs d'ajustement qui généraient un changement au moins égal à 10% de l'estimation de l'association (OR) entre l'issue de grossesse et au moins une des mesures d'exposition (environnementale ou dose interne) dans l'étude de cohorte ou l'étude cas-témoins.

Les facteurs d'ajustement retenus pour la modélisation du risque de RCIU sont : le statut marital, la présence d'une hypertension avant et/ou pendant la grossesse, la consommation de tabac et d'alcool, Pour la modélisation du risque de prématurité, la parité et la présence de diabète avant et/ou pendant la grossesse ont été ajoutées aux facteurs précédents.

Les cofacteurs sont de nature catégorielle ou ont été mis en classes, ainsi qu'ils sont présentés dans le Tableau 48. Les variables d'exposition aux THMs ont été mises en catégories, après avoir mis en œuvre un modèle additif généralisé (GAM) avec une fonction spline de degré 3 sur la variable d'exposition aux THMs pour les deux issues de grossesse étudiées. La forme de la relation entre ces variables et le risque de RCIU et prématurité ne montrant pas de relation dose-réponse particulière (linéaire ou quadratique, notamment), ni de seuil particulier associé à une augmentation ou une baisse des risques, nous avons choisi d'utiliser des quartiles pour les variables d'exposition environnementale (niveau des THMs dans les réseaux au cours des 3 trimestres) dont les distributions sont proches de la normalité et pour les variables d'exposition via les douches et les bains (distribution log-normale). Les distributions des variables d'exposition liées à l'ingestion et la piscine comportent une proportion importante de valeurs nulles. Les doses internes nulles constituent donc la classe de référence et le reste de la distribution a été divisé en terciles. Pour les modèles utilisant la concentration en TCAA des urines (études cas-témoins), les modèles ont été ajustés sur la créatinine (variable continue).

Des analyses de sensibilité ont été menées :

- Une étude précédente de la cohorte PELAGIE utilisant des biomarqueurs (Garlantezec et al. 2011) avait montré que la concentration urinaire en TCAA était associée avec une exposition professionnelle régulière aux produits de nettoyage. Nous avons donc réalisé une analyse de sensibilité en excluant les femmes professionnellement exposées aux produits de nettoyage.

- D'autre part, nous avons créé un indicateur de la « qualité » des estimations de l'exposition aux THMs environnementaux utilisées, reflétant la part des mesures réellement observées (par rapport aux mesures estimées par la modélisation) et avons estimé les modèles d'association entre les issues de grossesse et les expositions environnementales aux THMs sur des sous-échantillons de femmes pour lesquelles la qualité de l'estimation était la meilleure (c'est-à-dire avec 100% de mesures réelles, au moins 75%, ou au moins 50%).
- Nous avons aussi estimé les associations entre la détection de TCAA urinaire et le risque de RCIU en excluant les naissances prématurées.

VI. Association entre exposition aux THMs et risque de prématurité et de restriction de croissance intra-utérine

Nous présentons ici les résultats concernant l'exposition au cours du 3^{ème} trimestre. Les résultats obtenus pour les expositions au cours des 1^{er} et 2^{ème} trimestres se trouvent en ANNEXE C.

VI.1 Association avec l'exposition environnementale

Aucune association n'apparaît entre le niveau de THMs estimé dans les réseaux d'eau desservant les domiciles des femmes enceintes au cours de chaque trimestre de grossesse et le risque de restriction de croissance intra-utérine ou de prématurité. Le Tableau 57 présente les ORs estimés pour le troisième trimestre de grossesse. On ne note pas de différences de résultats selon le THM individuel étudié, même si l'exposition au bromoforme et au DBCM présente des ORs estimés supérieurs (mais non significatifs) pour le risque de restriction de croissance. Pour tous les THMs individuels et les deux issues de grossesse considérées, le test de tendance linéaire est non-significatif ($P=0,83$ pour le TTHM) et varie de 0,36 à 0,76 pour les 4 THMs individuels.

Tableau 57. Association entre les niveaux de THMs estimés dans les réseaux de distribution d'eau au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de RCIU (étude de cohorte)

N	RCIU		OR ^a	(IC _{95%})	Prématurité		OR ^b	(IC _{95%})
	Oui 171	Non 2923			Oui 106	Non 2978		
TTHM (µg/L)								
<38	38	646	1		27	650	1	
38-48	32	659	0,8	(0,5-1,3)	26	659	0,9	(0,5-1,7)
48-56	40	621	1,1	(0,7-1,7)	19	643	0,7	(0,4-1,3)
>56	40	620	1,1	(0,7-1,8)	18	633	0,7	(0,4-1,3)
CLF (µg/L)								
<5	35	546	1		27	552	1	
5-10	35	717	0,8	(0,5-1,2)	23	722	0,7	(0,4-1,2)
10-15	46	714	1,0	(0,6-1,5)	19	740	0,5	(0,3-0,9)
>15	34	609	0,9	(0,5-1,4)	23	610	0,8	(0,4-1,4)
BRF (µg/L)								
<5	27	584	1		21	577	1	
5-7,5	47	756	1,4	(0,8-2,2)	21	777	0,7	(0,4-1,3)
7,5-10	32	516	1,3	(0,8-2,3)	21	519	1,0	(0,5-2,0)
>10	44	690	1,4	(0,8-2,3)	27	712	1,1	(0,6-2,0)
DBCM (µg/L)								
<13	35	663	1		24	664	1	
13-15	37	729	1,0	(0,6-1,6)	26	742	1,0	(0,6-1,8)
15-18	32	478	1,3	(0,8-2,1)	22	484	1,3	(0,7-2,5)
>18	46	716	1,2	(0,8-1,9)	20	734	0,8	(0,4-1,5)
BDCM (µg/L)								
<9	40	633	1		25	647	1	
9-13	35	698	0,8	(0,5-1,2)	31	691	1,1	(0,7-2,0)
13-16	37	662	0,9	(0,6-1,4)	19	681	0,7	(0,4-1,3)
>16	38	593	1,0	(0,6-1,6)	17	605	0,8	(0,4-1,5)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; TTHM: total des 4 trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

VI.2 Association avec l'exposition pondérée par les usages de l'eau par les femmes enceintes

La pondération des niveaux estimés de THMs dans les réseaux par les différents usages de l'eau permet de distinguer l'exposition via les différentes voies (Tableau 58). L'exposition au THM via l'ingestion ne montre pas d'association avec les risques de restriction de croissance ou de prématurité. Les OR observés sont du même ordre de grandeur que pour les quartiles de l'exposition environnementale, pour les deux issues de grossesse étudiées (variant de 1,1 à 1,2, non significatifs statistiquement). En revanche, la prise en compte des fréquences et durées des bains et des douches fait apparaître une association avec le risque de restriction de croissance : les 3 quartiles d'exposition les plus élevés sont associés à des ORs allant de 2,2 [0,9-5,1] à 2,5 [1,0-6,3]. On ne note cependant pas de réelle tendance linéaire, les trois catégories ayant des ORs très comparables, elles se distinguent pareillement du premier quartile d'exposition. La tendance linéaire a été testée statistiquement, en utilisant le logarithme népérien de l'exposition (car sa distribution est log-normale). Le paramètre estimé est de 1,24 [0,97-1,59] ($P=0,09$), indiquant une relation croissante entre l'exposition via les douches et les bains et le risque de restriction de croissance intra-utérine à la limite de la significativité.

L'exposition aux THMs via la fréquentation de la piscine (indépendante des niveaux de THMs dans les réseaux d'eau potable) apparaît plutôt associée à une réduction du risque (tous les ORs estimés sont inférieurs à 1). Aucune association n'est statistiquement significative pour la restriction de croissance, mais des ORs significativement inférieurs à 1 sont observés pour le risque de prématurité.

Tableau 58. Association entre l'exposition au TTHM au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse via différentes voies (ingestion, bains et douches, piscine) et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

	RCIU		OR ^a	(IC _{95%})	Prématurité		OR ^b	(IC _{95%})
	Oui	Non			Oui	Non		
N	171	2923			106	2978		
TTHM dose totale (µg/jour)								
<0,351	7	223	1		7	219	1	
0,351-0,578	23	292	2,4	(1,0- 5,7)	11	299	0,9	(0,3- 2,5)
0,578-0,940	25	350	2,1	(0,9- 5,1)	10	361	0,7	(0,2- 1,8)
≥ 0,940	14	208	2,0	(0,8- 5,1)	8	213	0,9	(0,3- 2,6)
TTHM ingérés (µg/jour)								
0	21	415	1		19	416	1	
0-0,009	42	690	1,2	(0,7-2,0)	16	717	0,5	(0,2-1,0)
0,009-0,025	45	735	1,1	(0,6-1,9)	28	736	0,8	(0,4-1,6)
>0,025	41	680	1,1	(0,6-1,9)	24	690	0,8	(0,4-1,5)
TTHM via les douches et bains (µg/jour)								
<0,32	7	233	1		7	227	1	
0,32-0,55	23	327	2,3	(1,0-5,5)	13	335	1,0	(0,4-2,6)
0,55-0,90	25	361	2,2	(0,9-5,1)	9	371	0,5	(0,2-1,6)
>0,90	16	196	2,5	(1,0-6,3)	8	203	0,8	(0,3-2,7)
TTHM via la piscine (µg/jour)								
0	58	774	1		34	793	1	
0-0,018	6	173	0,5	(0,2-1,1)	6	171	0,8	(0,3-1,9)
0,018-0,07	8	167	0,7	(0,3-1,4)	1	173	0,1	(0,0-0,9)
>0,07	6	176	0,4	(0,2-1,1)	3	174	0,4	(0,1-1,3)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine ; TTHM: total des 4 trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

En différenciant les doses internes totales (cumul des trois voies d'exposition) par THM individuel, on observe des niveaux d'association avec le risque de RCIU plus élevés pour les composés bromés (BRF, DBCM, BDCM), avec des ORs de l'ordre de 1,6 à 1,9 pour les catégories d'exposition les plus élevées (Tableau 59). Ces associations demeurent cependant non statistiquement significatives. On ne retrouve pas de tendance semblable pour le risque de prématurité.

Tableau 59. Association entre les doses internes totales des différents THMs (cumul des voies d'exposition) estimées au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

N	RCIU		OR ^a	(IC _{95%})	Prématurité		OR ^b	(IC _{95%})
	Oui 171	Non 2923			Oui 106	Non 2978		
CLF (µg/jour)								
<0,068	14	253	1		7	258	1	
0,068-0,133	17	260	1,1	(0,5-2,3)	15	261	1,8	(0,7-4,8)
0,133-0,237	22	309	1,2	(0,6-2,4)	7	316	0,7	(0,2-2,1)
≥ 0,237	16	264	1,0	(0,5-2,1)	9	268	1,0	(0,4-2,9)
BRF (µg/jour)								
<0,057	13	232	1		8	229	1	
0,057-0,113	25	388	1,1	(0,6-2,2)	8	403	0,5	(0,2-1,3)
0,113-0,205	16	313	0,9	(0,4-1,9)	14	312	1,2	(0,5-3,0)
≥ 0,205	15	140	1,8	(0,8-3,9)	6	148	0,8	(0,2-2,6)
DBCM (µg/jour)								
<0,118	10	257	1		9	253	1	
0,118-0,188	18	277	1,6	(0,7-3,6)	8	282	0,7	(0,2-1,9)
0,188-0,267	18	262	1,7	(0,8-3,8)	10	268	0,9	(0,3-2,4)
≥0,267	23	290	1,9	(0,9-4,1)	11	300	0,8	(0,3-2,2)
BDCM (µg/jour)								
<0,083	12	271	1		10	270	1	
0,083-0,141	17	255	1,5	(0,7-3,2)	7	259	0,6	(0,2-1,6)
0,141-0,226	20	289	1,5	(0,7-3,1)	12	294	0,9	(0,4-2,2)
≥ 0,226	20	271	1,6	(0,8-3,4)	9	280	0,7	(0,3-1,8)

Abbreviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine ; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

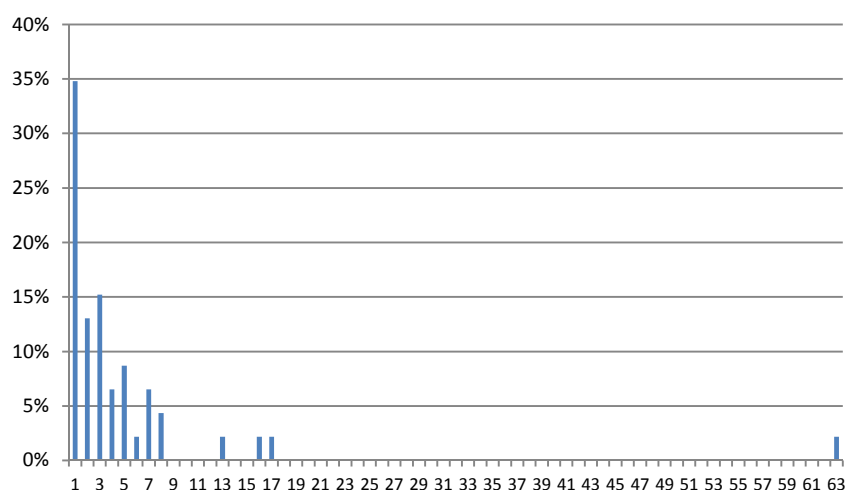
^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

VI.3 Association avec le TCAA urinaire maternel

VI.3.1 Les niveaux de TCAA urinaire observés

Le TCAA urinaire a été détecté dans 6,7% des échantillons maternels testés dans les études cas-témoins nichées (41/611). La médiane des valeurs détectées est de 0,03 mg/L d'urine (soit 0,02 mg/g de créatinine). On observe une valeur atypique (0,63) très largement supérieure au 95^{ème} percentile (0,16) (Figure 23).

Figure 23, Distribution des valeurs de TCAA urinaires détectées (LD=0,01 mg/L, N=41, 6,7% des échantillons testés), exprimées en (mg/L x 100)



Compte tenu du faible nombre de valeurs détectées, nous traiterons cette variable sous forme d'indicatrice (TCAA détecté/non-détecté) pour étudier son association avec les risques de RCIU et de prématurité.

VI.3.2 Corrélations entre les niveaux de TCAA urinaire et les autres mesures d'exposition aux SPCs

Les niveaux de THMs environnementaux (estimation des concentrations dans les réseaux d'eau) et les doses internes estimées en tenant compte des usages de l'eau du robinet par les femmes (via l'ingestion, les douches et les bains) ne diffèrent pas significativement entre les femmes pour lesquelles on a détecté du TCAA dans les urines et celles pour lesquelles le niveau de TCAA est inférieur à la limite de détection (0,01 mg/L) (Tableau 60). Pour la fréquentation de

piscine, on observe une différence proche de la significativité à 5%, mais inverse au sens attendu : la dose interne de TTHM due à la fréquentation de la piscine est plus élevée chez les femmes n'ayant pas de TCAA détecté dans les urines.

En revanche, lorsque l'on restreint l'échantillon aux femmes pour lesquelles du TCAA a été détecté dans les urines, on observe des corrélations positives significatives de l'ordre de 0,50 entre les doses internes estimées de TTHM (et ses 4 composés – hormis le bromoforme) provenant de l'ingestion et les niveaux de TCAA urinaires ($R=0,58$ pour le TTHM). Aucune corrélation n'est observée entre le niveau de TCAA urinaire et la concentration environnementale en TTHM ($R=-0,08$), ni en ses composés considérés séparément. Les corrélations avec la dose interne provenant de l'exposition via les douches et les bains ou la piscine ne sont pas significatives. Une corrélation significative ($R=0,55$) apparaît entre le volume d'eau du robinet ingéré quotidiennement et le niveau de TCAA urinaire. La pondération de ce volume par le niveau de TTHM présent dans l'eau augmente très légèrement la corrélation avec le niveau de TCAA dans les urines (de à 0,55 à 0,57).

Tableau 60. Association entre la concentration urinaire maternelle en TCAA, la consommation d'eau du robinet et les doses internes de THMs au cours du 1^{er} trimestre de grossesse (études cas-témoins nichées) (N=669)

	N ^a	TCAA < LD ^b N=570	TCAA ≥ LD ^b N=41	P-value ^c	Corrélation avec la concentration en TCAA ^d		
		Moyenne (std)	Moyenne (std)		N	R	P-value
TTHM dans le réseau	488/35	46,0 (13,3)	46,7 (16,5)	0,55	35	-0,08	0,64
Volume d'eau du robinet ingérée quotidiennement (L/jour)	567/39	0,2 (0,3)	0,2 (0,4)	0,88	23	0,55	0,01
Dose interne totale de TTHM (µg/jour)	238/20	0,65 (0,36)	0,52 (0,24)	0,23	11	0,33	0,32
Dose interne de THM via l'ingestion (µg/jour)							
TTHM	481/32	0,02 (0,03)	0,02 (0,04)	0,97	18	0,57	0,01
CLF	484/33	0,01 (0,02)	0,02 (0,03)	0,95	19	0,56	0,01
BRF	481/32	0,002 (0,004)	0,003 (0,002)	0,95	18	0,32	0,20
DBCM	484/33	0,004 (0,005)	0,003 (0,004)	0,88	19	0,58	0,01
BDCM	484/33	0,003 (0,005)	0,003 (0,005)	0,97	19	0,54	0,02
Dose interne de THM via les douches/ bains (µg/jour)							
TTHM	246/22	0,61 (0,34)	0,50 (0,29)	0,28	22	0,18	0,43
CLF	247/22	0,15 (0,12)	0,14 (0,13)	0,57	22	0,35	0,11
Dose interne de TTHM via la piscine (µg/jour)	287/23	0,02 (0,04)	0,01 (0,02)	0,07	23	-0,28	0,19

Abbréviations: TTHM: Total des 4 Trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane ; LD: limite de détection

^a Nombre d'échantillons avec TCAA détecté/ Nombre d'échantillons avec TCAA non-détecté – Les effectifs totaux varient en fonction des valeurs manquantes des variables étudiées,

^b LD du TCAA = 0,01 mg/L

^c Test de Wilcoxon bilatéral comparant les niveaux moyens des variables d'exposition aux THMs dans le groupe des femmes avec du TCAA détecté versus un niveau de TCAA < LD

^d Les corrélations avec les doses internes via l'ingestion ont été calculées parmi les femmes qui boivent de l'eau du robinet

VI.3.3 Association entre le TCAA urinaire et les risques de prématurité et de restriction de croissance intra-utérine

Sans ajustement préalable, on observe un taux de détection du TCAA chez les cas de restriction de croissance intra-utérine deux fois plus élevé que chez les témoins (11,2% versus 5,8% - test du Khi2 : $P=0,03$). Aucune différence n'est observée pour les cas de naissance prématurée (taux de détection du TCAA = 5,4%).

Le Tableau 61 présente les résultats d'association entre la détection de TCAA dans les urines maternelles et les risques de restriction de croissance et prématurité, après ajustement.

Un risque accru de restriction de croissance proche de la significativité ($OR=1,8$) est observé chez les femmes ayant du TCAA détecté dans les urines. Lorsque l'analyse est restreinte aux femmes qui ne sont pas exposées professionnellement à des produits d'entretien ($N=111$ femmes déclarent une exposition), l'association entre la détection de TCAA et le risque de restriction de croissance est accentuée et devient significative : $OR=2,3$ [1,1-5,2].

Concernant le risque de prématurité, l'OR ajusté est de 0,8 [0,3-2,3] pour les femmes ayant du TCAA détecté dans les urines. La restriction de l'analyse aux femmes non-exposées professionnellement montre une absence de relation : $OR=1,1$ [0,3-3,4].

Tableau 61. Association entre la détection de TCAA dans les urines maternelles en début de grossesse, l'exposition aux THMs via l'ingestion d'eau du robinet (1^{er} trimestre) et le risque de prématurité et de restriction de croissance (OR et IC_{95%})

	Restriction de croissance				Prématurité			
	Cas	Témoins	OR ^a	(IC _{95%})	Cas	Témoins	OR ^b	(IC _{95%})
	171	391			105	386		
TCAA urinaire								
Non-détecté	118	368	1		80	364	1	
Détecté ($\geq 0,01$ mg/L)	14	23	1,8	(0,9-3,7)	4	22	0,8	(0,3-2,6)
Dose interne totale en TTHM ($\mu\text{g}/\text{jour}$)								
0	8	40	1		8	40	1	
0-0,009	22	42	2,3	(0,9-5,9)	11	41	1,1	(0,4-3,3)
0,009-0,025	24	58	1,8	(0,7-4,5)	10	57	0,7	(0,2-2,1)
>0,025	14	26	2,0	(0,7-5,8)	10	26	1,1	(0,3-3,8)
Dose interne via l'ingestion ($\mu\text{g}/\text{jour}$)								
TTHM								
0-0,003	30	79	1		25	78	1	
0,003-0,011	44	96	1,2	(0,7-2,1)	17	96	0,6	(0,3-1,2)
0,011-0,028	37	79	1,0	(0,5-1,8)	23	78	0,9	(0,4-1,8)
>0,028	38	73	1,2	(0,7-2,3)	28	70	1,3	(0,7-2,6)
CLF								
0-0,001	30	72	1		23	71	1	
0,001-0,006	51	112	1,0	(0,6-1,7)	24	112	0,7	(0,3-1,5)
0,006-0,015	29	72	0,8	(0,4-1,5)	19	71	0,8	(0,4-1,8)
>0,015	40	74	1,2	(0,7-2,2)	27	71	1,2	(0,6-2,5)
BRF								
0-0,0003	30	86	1		23	85	1	
0,0003-0,0013	58	114	1,4	(0,8-2,4)	28	113	0,9	(0,5-1,8)
0,0013-0,0034	37	70	1,4	(0,8-2,6)	23	69	1,1	(0,5-2,2)
>0,0034	24	57	1,1	(0,6-2,2)	19	55	1,3	(0,6-2,7)
DBCM								
0-0,0008	34	95	1		26	94	1	
0,0008-0,0023	39	84	1,4	(0,8-2,4)	15	84	0,7	(0,3-1,5)
0,0023-0,0052	39	77	1,2	(0,7-2,2)	26	76	1,2	(0,6-2,3)
>0,0052	38	74	1,4	(0,8-2,5)	26	71	1,5	(0,7-2,9)
BDCM								
0-0,0005	34	95	1		27	94	1	
0,0005-0,0016	40	81	1,3	(0,7-2,2)	16	81	0,8	(0,3-1,5)
0,0016-0,004	39	80	1,1	(0,6-2,0)	22	79	1,0	(0,5-1,9)
>0,004	37	74	1,3	(0,7-2,3)	28	71	1,5	(0,7-2,8)

Abbréviations: OR, Odds Ratio; IC_{95%} : Intervalle de confiance à 95% ; TTHM: total des 4 trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=562 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur l'hypertension et le diabète maternels avant et/ou pendant la grossesse et la parité (N=491 avec données complètes sur ces covariables)

On remarque que les ORs associés à la dose interne de TTHM via l'ingestion au cours du 1^{er} trimestre dans l'étude cas-témoins de la RCIU sont très comparables à ceux observés au 3^{ème} trimestre sur l'ensemble de la cohorte (de l'ordre de 1,1 à 1,2 pour les 3 derniers quartiles d'exposition). Pour la prématurité, c'est aussi le cas pour les 2 catégories d'exposition intermédiaires, la catégorie la plus élevée montrant un OR plus élevé dans l'étude cas-témoins (1,3 versus 0,8), mais aucun de ces ORs n'est significativement différent de 1.

VII. Discussion

Notre étude suggère une association entre l'exposition prénatale aux SPCs et le risque de RCIU en utilisant deux types de mesure d'exposition : des estimations des THMs environnementaux, pondérées par les usages de l'eau par la femme enceinte et le dosage d'un biomarqueur urinaire, le TCAA, dont la source est supposée être la seule eau du robinet. Le risque de RCIU augmente avec l'exposition aux THMs via les douches et les bains (plus particulièrement avec les composés bromés) et avec la détection de TCAA dans les urines des femmes. C'est la première étude sur l'exposition prénatale aux SPCs et ses conséquences sur les issues de grossesse qui utilise un biomarqueur d'exposition.

Notre étude présente un certain nombre de points forts, mais aussi des limites que nous allons discuter, notamment concernant la mesure de l'exposition.

L'étude PELAGIE

Le design de notre étude, une cohorte prospective, est un point fort de ce travail. Ce type d'études permet de collecter prospectivement les informations sur les expositions, ce qui limite les biais de mémorisation qui peuvent générer des erreurs différentielles de classement des expositions. Les variables d'exposition aux SPCs ont été collectées à un stade précoce de la grossesse (avant la 19^{ème} SA) (adresse, ingestion d'eau). Ce type d'études permet aussi de collecter de manière prospective (avant l'issue de la grossesse) les informations sur les facteurs de risque individuels, les événements de santé susceptibles d'influer sur les issues de grossesse et/ou d'interagir avec l'exposition étudiée. La fiche remplie à la maternité par l'équipe médicale lors de la naissance nous a permis à la fois de retracer le déroulement de la grossesse et de définir de manière fiable les issues de grossesse, limitant ainsi aussi les erreurs de classement de celles-ci.

Par comparaison, les études rétrospectives qui constituent la majorité de la littérature décrite précédemment dans ce chapitre (partie I) ont eu accès à un nombre plus restreint de covariables car limitées aux informations collectées légalement dans les registres des naissances.

La population de la cohorte PELAGIE présente des caractéristiques différentes de la population générale bretonne et française. La participation à l'étude se fait sur la base du volontariat, ce qui a tendance à sélectionner une population plus favorisée que la moyenne. Nous n'avons pas connaissance du niveau de revenu des femmes, mais elles ont très majoritairement fait des études supérieures et sont peu nombreuses à vivre seules en début de grossesse. La participation à cette étude qui met en rapport l'environnement et la santé reflète aussi probablement un intérêt pour cette question et donc une sensibilité personnelle à l'entretien de sa santé plus élevée que la moyenne. On note ainsi une différence par rapport à la moyenne nationale quant à des comportements à risque tels que la consommation de tabac et d'alcool. L'enquête nationale périnatale menée en France en 2003 (Lelong et al. 2011) estime à 21% le taux de femmes enceintes fumant au cours de leur grossesse. C'est le cas de seulement 14% des femmes de la cohorte PELAGIE à l'inclusion (d'autre part, 14,4% des femmes affirment avoir cessé de fumer entre le début de leur grossesse et l'inclusion). En ce qui concerne la consommation d'alcool, une étude menée en Auvergne (de Chazeron et al. 2008) auprès de femmes ayant accouché récemment a montré que 0,7% d'entre elles déclaraient avoir bu quotidiennement de l'alcool au cours de leur grossesse (c'est le cas de 1,9% des femmes de la cohorte PELAGIE), 24,5% plus d'une fois par mois (12,8% dans la cohorte PELAGIE) et 13,7% rapportaient au moins un épisode de « binge drinking » (nous n'avons pas cette information pour PELAGIE). La population PELAGIE présente donc un tableau plutôt favorable en termes de consommation de tabac et d'alcool, tous deux facteurs de risque d'issues de grossesse défavorables. D'autre part, la collecte de ces informations de comportement se faisant en début de grossesse, le possible biais de déclaration n'est pas différentiel entre les cas et les non-cas apparus plus tard dans la cohorte.

Le fait d'avoir une population d'étude assez homogène et plutôt favorisée permet une sorte de contrôle d'un ensemble indéfini de facteurs de risques potentiels et en quelque sorte d'isoler plus facilement l'effet de l'exposition à laquelle on s'intéresse et de limiter les biais différentiels de sélection.

Une mesure personnalisée de la restriction de croissance

L'autre point fort de notre étude est l'utilisation d'une mesure plus précise de la restriction de croissance, interne à notre population. La très grande majorité des études publiées s'intéressant à la restriction de croissance utilisent des courbes de références nationales ou régionales ajustées sur l'âge gestationnel, le sexe et l'origine ethnique si nécessaire. Elles concernent donc plutôt l'issue de grossesse de « petit poids de naissance par rapport à l'âge gestationnel » (« Small for Gestational Age »). Cette mesure ne permet pas de tenir compte de la variabilité de poids existant pour un même sexe et âge gestationnel. Les déterminants de cette variabilité sont liés aux caractéristiques morphologiques maternelles (Ego et al. 2006), mais aussi au rang de naissance et à la parité (Mamelle et al. 2001). L'étude de Albou-Llaty (Albouy-Llaty et al. 2011) a montré que les caractéristiques anthropométriques maternelles et paternelles étaient significativement associées avec les mesures échographiques effectuées en milieu ou fin de grossesse (cohorte EDEN). L'ajustement a posteriori sur ces variables dans les modèles étudiant l'association avec l'exposition est la stratégie la plus souvent utilisée dans la littérature. Mais cette solution laisse la possibilité d'existence d'une confusion résiduelle, la qualité de l'ajustement du modèle dépendant des autres cofacteurs présents dans les modèles. L'intégration de ces éléments dans la définition même de la variable expliquée permet un meilleur ajustement. Dans la cohorte PELAGIE, nous avons comparé l'estimation de l'association entre le risque de restriction de croissance et l'hypertension maternelle, en utilisant la variable de restriction de croissance ne tenant compte que de l'âge gestationnel et du sexe et la variable intégrant les caractéristiques anthropométriques de la mère. L'OR obtenu dans le deuxième cas est apparu plus élevé et plus précis que dans le premier cas (3,48 [2,22-5,55] versus 3,24 [1,83-5,73]). Ceci a conforté notre choix d'une mesure personnalisée de la restriction de croissance, d'autant que les courbes de références populationnelles disponibles au démarrage de l'étude PELAGIE étaient quelque peu anciennes (1986).

L'estimation de l'exposition aux SPCs

La mesure de l'exposition représente un enjeu majeur des études s'intéressant aux SPCs. Nous avons utilisé deux types de mesures (mesure environnementale versus biomarqueur) et deux familles de SPCs particuliers (les THMs et les HAAs) qui présentent chacune des avantages et inconvénients, des forces et des faiblesses.

Les niveaux environnementaux de THMs

Notre méthode d'estimation des niveaux environnementaux de THMs présente des limites importantes. Nous avons utilisé une base réglementaire dont les principes de collecte ne correspondent pas à une logique d'estimation de l'exposition dans une étude épidémiologique non écologique. La fréquence des prélèvements y est extrêmement variable et faible au regard des variations potentiellement présentes à la fois dans le temps et l'espace sur les réseaux, ainsi que nous l'avons décrit précédemment. L'utilisation de modèles mixtes avec un effet aléatoire sur l'ordonnée à l'origine, mais pas sur les coefficients des variables explicatives (ici le département et le temps) a pour principe d'appliquer à toutes les UDIs alimentées par un même type d'eau (1 modèle par type d'eau) un même effet de ces variables sur le niveau de THM estimé, mais en partant d'un niveau moyen de THM spécifique à chaque UDI. Or, le nombre de points et la saison à laquelle ces points ont été mesurés influent sur la détermination de ce niveau moyen de base estimé pour chaque UDI. Les modèles mixtes mis en œuvre ont donc été appliqués dans des conditions difficiles. Les éléments de validation produits permettent de retrouver les tendances saisonnières observées dans les autres études et des niveaux plus élevés dans les réseaux alimentés par de l'eau de surface. Dans la littérature, les mesures de THMs dans les réseaux utilisées sont aussi très majoritairement des mesures réglementaires, comme nous l'avons vu en partie I. Mais les réglementations américaine, canadienne et britannique garantissent des fréquences de prélèvement plus régulières (une fois par trimestre, en plusieurs points des réseaux) qu'en France. De plus, le nombre de réseaux desservant la population est assez importante en France (700 UDIs répertoriées sur l'ensemble de la Bretagne, 350 pour la population incluse dans PELAGIE). Le nombre de systèmes de distribution évoqués dans les études américaines ou britanniques est largement inférieur, alors que la population desservie est importante. Le regroupement de certaines UDI de la base SISE-Eaux est une possibilité pour améliorer les conditions d'estimation des modèles de prédiction des niveaux de THMs, mais qui nécessite une connaissance fine des caractéristiques de tous les réseaux.

D'autre part, il faut noter que les réseaux d'eau potable en Bretagne sont très majoritairement alimentés par de l'eau de surface. Par conséquent, la presque totalité des femmes de la cohorte est exposée aux THMs. La catégorie de référence utilisée pour estimer les risques relatifs associés aux différents niveaux d'exposition, basée sur le 1^{er} quartile de la distribution des THMs environnementaux, a une borne supérieure relativement élevée (38 µg/L) et inclut des femmes exposées à des niveaux de THMs non nuls. Ceci a pu limiter les contrastes observés entre les niveaux d'exposition comparés et amener à sous-estimer les associations.

Il nous faut aussi noter que la correspondance entre le domicile des femmes et les réseaux de distribution d'eau a été faite en début de grossesse, au moment de l'inclusion et que la mobilité éventuelle des femmes en cours de grossesse n'a pas été prise en compte. Or, la grossesse est une période durant laquelle des déménagements peuvent se produire du fait de l'agrandissement de la famille. Une revue de la littérature publiée en 2012 (Bell and Belanger 2012) a synthétisé 14 études intégrant des informations sur la mobilité des femmes au cours de la grossesse (la moitié d'entre elles menées aux Etats-Unis). Les taux de mobilité y varient de 9 à 32%, les plus élevés étant observés au deuxième trimestre de grossesse. Ils décroissent avec l'âge, le fait d'être marié, la parité et le statut socio-économique et concernent pour la plupart de petites distances. Dans notre étude, des erreurs de classement de l'exposition peuvent ont donc pu se produire, potentiellement liées à certains facteurs de confusion de nos modèles d'association avec les issues de grossesse.

Cette question du déménagement est à mettre en rapport avec la période de la grossesse supposée la plus à risque : si l'on considère que les effets de l'exposition sont la conséquence d'une exposition au cours du premier trimestre de grossesse, la question d'un déménagement possible présente moins d'enjeu que si l'on considère que la fenêtre d'exposition pertinente est le deuxième ou le troisième trimestre de grossesse. Or, comme nous le discuterons plus tard, l'existence d'une fenêtre d'exposition spécifique n'a pas encore été démontrée.

Les informations sur les usages de l'eau par les femmes enceintes

Un des points forts de notre étude est l'intégration des usages de l'eau par les femmes enceintes dans l'estimation de l'exposition aux THMs, ce qui n'était pas le cas de nombreuses études avant la publication des résultats des études de cohortes prospectives des années 2010 (6 études seulement avant 2011). Cependant, nos estimations des usages de l'eau présentent quelques limites que nous allons détailler.

Concernant l'exposition par ingestion, nous n'avons tenu compte que de l'exposition des femmes à leur domicile, alors que 80% des femmes déclaraient travailler en début de grossesse et consomment donc une partie de leurs boissons sur le lieu de travail. Cependant, nous pouvons considérer que l'impact sur l'estimation des doses de THMs ingérés est faible, car dans le questionnaire plus détaillé du suivi à 2 ans, il est apparu que sur leur lieu de travail, 82% des femmes ne buvaient que de l'eau embouteillée.

Nous avons fait l'hypothèse que la consommation journalière moyenne déclarée par la femme en début de grossesse était restée constante au cours de la grossesse. Or, l'étude de (Forssen et al. 2009) a montré que la consommation d'eau des femmes enceintes pouvait augmenter pendant la grossesse : 80% des femmes de l'étude ont changé d'habitude de consommation d'eau du robinet froide (pour 33%, la variation négative ou positive est supérieure à 1 L/jour entre le début et le milieu de la grossesse). Globalement, les auteurs observent une augmentation de la consommation d'eau froide au cours de la grossesse. La consommation de boissons chaudes préparées à base d'eau du robinet a par contre tendance à diminuer au cours de la grossesse. Dans notre étude, l'utilisation d'une même consommation d'eau déclarée en début de grossesse a probablement conduit à une sous-estimation de la consommation d'eau du robinet au cours des 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de grossesse. Nous avons réalisé une étude de sensibilité à partir des facteurs prédictifs du changement de consommation d'eau observés par (Forssen et al. 2009). Les facteurs prédictifs identifiés étaient l'âge maternel (les femmes de plus de 35 ans avaient une augmentation plus importante), le niveau de revenu (les revenus supérieurs à 40 000 dollars), l'origine ethnique (femmes blanches non-hispaniques). La cohorte PELAGIE étant très homogène en termes d'origine ethnique, nous n'avons pas intégré ce dernier aspect. L'information sur le niveau d'études (que l'on peut utiliser comme proxy du niveau de revenu) et l'âge maternel étaient les variables utilisables pour une analyse de sensibilité à la variation de la consommation d'eau du robinet au cours de la grossesse. Nous avons simulé une augmentation de 25% de la consommation d'eau du robinet chez les femmes les plus âgées de la cohorte entre le 1^{er} et le 2^{ème} trimestre de la grossesse. Cette augmentation a eu pour effet de changer la catégorie d'exposition au TTHM de 9,4% des femmes âgées de plus de 35 ans vers la catégorie d'exposition supérieure. Cette modification de la consommation d'eau du robinet n'a engendré aucune modification significative de l'association entre l'exposition au TTHM via l'eau de boisson et le risque de RCIU ou de prématurité (variation maximale des ORs de 4%). Concernant le niveau d'études, l'étude de (Forssen et al. 2009) a observé une décroissance de la consommation d'eau pour les femmes ayant un niveau d'études moyen ou élevé. Mais dans notre cohorte, il existe une association entre l'âge maternel et le niveau d'études (la catégorie des femmes plus âgées regroupe plus de femmes avec un faible niveau d'études). Les effets antagonistes de l'âge et du niveau d'études nous ont semblé difficiles à intégrer dans une simulation pour une étude de sensibilité. Nous ne l'avons donc pas mise en œuvre.

Dans l'estimation de l'exposition par ingestion, nous avons différencié les boissons chaudes et les boissons froides, en appliquant un coefficient de réduction de 70% des THMs

correspondant à leur volatilisation. Par contre, nous n'avons pas pris en compte l'utilisation possible de filtres pour l'eau du robinet. Cette information n'était disponible que pour les femmes ayant participé au suivi à 2 ans. Celles-ci étaient 7% à utiliser une carafe filtrante ou un filtre. Ce chiffre surestime peut-être la proportion d'utilisatrices dans la cohorte entière à l'inclusion, compte tenu des caractéristiques sociodémographiques des femmes participant au suivi, que nous allons évoquer ci-après.

Concernant la mesure de l'exposition via les douches et les bains, les informations n'ont pu être collectées que pour les femmes de la cohorte qui ont participé au suivi à 2 ans (1505 femmes sur 3323). En dehors de la réduction de la taille d'échantillon, l'utilisation de données issues du suivi à 2 ans implique une éventuelle sélection de la population. Les femmes qui participent au suivi à 2 ans, sur la base du volontariat, diffèrent de la population initiale quant au niveau d'études (les femmes participant au suivi à 2 ans sont plus nombreuses à avoir fait des études supérieures), à la consommation de tabac (la proportion de fumeuses y est plus faible) et au statut marital (elles sont moins nombreuses à vivre seules) (Tableau 72, Annexe D). Cette population est donc « sélectionnée » sur un certain nombre de facteurs socio-économiques associés à la prématurité et à la restriction de croissance, mais elle ne diffère pas sur des critères plus cliniques tels que la présence d'hypertension artérielle ou de diabète avant ou pendant la grossesse, l'IMC, l'âge, la parité. D'autre part, les taux de RCIU et de prématurité ne sont pas significativement différents entre les deux populations (taux de RCIU chez les suivies à 2 ans de 5,7% versus 5,8%, taux de prématurité de 3,3% versus 3,8%).

L'utilisation d'informations issues du suivi à 2 ans implique une estimation rétrospective de l'exposition via les douches et les bains. Elle est donc potentiellement soumise à un biais de mémoire, qui pourrait différer selon que l'issue de grossesse a été ou non défavorable. Nous n'avons pas trouvé d'études dans la littérature concernant la sous- ou sur-déclaration des activités relatives aux bains et douches dans des questionnaires rétrospectifs. Les femmes étaient informées des objectifs généraux de l'étude (effets des expositions environnementales au sens large sur leur grossesse et le développement de leur enfant). La population française est relativement peu informée de la problématique des SPCs. Les principaux polluants associés à l'eau connus de la population générale, en Bretagne plus particulièrement, sont les nitrates. La voie d'exposition principale identifiée par la population est quasi-exclusivement l'ingestion, l'exposition via les douches et les bains étant très peu soupçonnée. Nous pouvons supposer que la collecte rétrospective des fréquences et durées des bains et des douches ne souffre pas de biais différentiel de rappel.

Le nombre moyen de douches et de bains déclaré en début de grossesse a été appliqué à toute la grossesse. Nous n'avons pas pu estimer la variabilité intraindividuelle au cours de la grossesse. Dans leur étude sur la variation des usages de l'eau au cours de la grossesse, (Forssen et al. 2007) ont montré que la fréquence et durée des douches et le nombre de bains avaient tendance à diminuer (réduction moyenne de la fréquence des douches de 1,4 fois/semaine et de leur durée hebdomadaire de 3,8 minutes par semaine). Nous n'avons pas mené d'étude de sensibilité sur cette source d'exposition.

L'utilisation d'un biomarqueur d'exposition aux SPCs

Le principal point novateur de notre étude est l'utilisation d'un biomarqueur recueilli de manière prospective comme mesure d'exposition aux SPCs. C'est la première étude publiée à l'avoir proposé. L'utilisation de mesures internes d'exposition à l'aide de biomarqueurs est une des solutions évoquées dans la littérature pour réduire les erreurs de classement présentes aux différentes étapes de la reconstitution de l'exposition, ainsi que nous venons de l'évoquer.

Le TCAA urinaire présente de bonnes propriétés pour être un biomarqueur d'exposition chronique au TCAA présent dans l'eau de boisson chlorée, ainsi que l'ont montré différents auteurs. D'autre part, du fait d'une demi-vie de plusieurs jours (1,2 à 6 jours après l'exposition), d'une exposition à l'eau du robinet régulière, à des fréquences supérieures à la journée, ce biomarqueur peut refléter une exposition chronique. Si les études transversales ont montré une bonne corrélation entre l'excrétion urinaire de TCAA et l'ingestion d'eau de boisson contenant du TCAA, des études longitudinales ont aussi montré une variabilité intra-individuelle parfois égale à la variabilité inter-individuelle. Cependant, la dernière étude de (Zhang et al. 2009) a montré que 2 mesures de TCAA urinaire dans un intervalle de 2 jours permettaient d'atteindre une fiabilité suffisante (coefficient de corrélation intraclass supérieur à 0,70) pour des comparaisons de groupes de population.

Dans notre étude, nous n'avons procédé qu'à une seule collecte d'urines (au moment de l'inclusion, en début de grossesse) et nous n'avons pu évaluer ni prendre en compte la variabilité intra-individuelle de cette mesure. Ceci occasionne très probablement des erreurs de mesure du niveau de TCAA présent en moyenne au cours du premier trimestre de grossesse. Cependant, du fait d'une limite de détection assez élevée dans notre étude, nous n'avons utilisé cette variable d'exposition que sous forme catégorielle (TCAA détecté versus non-détecté) et n'avons pas tiré de conclusions sur les valeurs individuelles mesurées. D'autre part, on peut raisonnablement faire

l'hypothèse que ces erreurs de mesure sont non-différentielles entre les cas et les témoins, car la principale source de variabilité du TCAA urinaire mise en évidence dans les études est la source d'eau et le volume d'eau du robinet consommé (Froese et al. 2002).

L'une des limites rencontrées dans notre étude est la limite de détection du biomarqueur liée à la technique analytique utilisée: 5,9% des témoins seulement ont une concentration urinaire en TCAA supérieure à 0,01 mg/L (10 µg/L - limite de détection). Ce seuil correspond au 70^{ème} percentile de la distribution observée en population générale dans l'étude américaine de (Calafat et al. 2003), qui utilisait une technique analytique plus sensible (LD=0,5 µg/L). Du fait d'une LD élevée, nous n'avons pu étudier la forme de la relation dose-réponse entre le niveau de TCAA urinaire et le risque de prématurité et de restriction de croissance. D'autre part, la catégorie de référence utilisée (non-détection de TCAA) contient un mélange de femmes qui ont probablement des valeurs nulles et non-nulles de TCAA. Par conséquent, les ORs estimés en comparaison avec cette référence sont probablement sous-estimés, par manque de contraste d'exposition.

Cependant, parmi les femmes pour lesquelles du TCAA urinaire a été détecté, nous avons observé une corrélation avec les niveaux de THMs ingérés plus importante qu'avec les niveaux de THMs provenant des douches et des bains. Ceci est conforme avec la voie d'exposition majoritaire de ces deux familles de produits : les THMs étant les plus volatiles, ils pénètrent majoritairement par inhalation et passage transcutané, alors que les HAAs n'étant pas volatiles, ils proviennent essentiellement de l'ingestion d'eau chlorée (Weisel et al. 1999) (Nieuwenhuijsen et al. 2000b). Une des limites de l'étude réside dans la non-connaissance des niveaux de TCAA dans les réseaux d'eau potable. Il nous est donc impossible de mettre en relation les concentrations urinaires avec les niveaux dans l'eau du robinet. Nous avons fait l'hypothèse que l'eau de boisson était la source de la présence de TCAA dans les urines, en excluant de l'analyse les femmes pour lesquelles une source professionnelle de TCAA pouvait être soupçonnée, à savoir les femmes exposées au perchloréthylène et au tétrachloroéthylène qui se métabolisent en TCAA dans l'organisme. Les corrélations que nous avons observées entre les valeurs de TCAA détectées et le volume d'eau du robinet ingéré (certes sur de petits effectifs) confortent cette hypothèse sur la source principale de présence de TCAA dans les urines des femmes de notre population. Dans notre cohorte, lors d'une étude préalable, nous avons montré une association entre la détection de TCAA dans les urines et la déclaration par la femme enceinte d'une exposition professionnelle régulière aux produits de nettoyage (Garlantezec et al. 2011). L'analyse de sensibilité de nos

résultats à l'exclusion de ces femmes a montré un renforcement de l'association observée entre la détection de TCAA urinaire et le risque de RCIU.

Une deuxième étude s'intéressant au lien entre le poids de naissance et le niveau de TCAA urinaire en fin de grossesse a été publiée la même année que la nôtre (Zhou et al. 2012a). L'étude a inclus 402 femmes chinoises, la limite de détection du TCAA urinaire était de 2 µg/L. Les 2 quartiles d'exposition les plus élevés (TCAA urinaire ajusté sur la créatinine) sont associés à une réduction (statistiquement non significative) du poids de naissance, avec ou sans ajustement sur l'âge gestationnel.

Quel SPC est associé au risque de RCIU ?

Jusqu'à présent, peu d'études épidémiologiques ont mesuré l'exposition prénatale aux SPCs à l'aide d'autres produits que les THMs. Cinq études épidémiologiques publiées précédemment à notre travail et une étude postérieure à notre publication, ont analysé l'association entre l'exposition aux THMs et aux HAAs simultanément.

L'étude de (Wright et al. 2004) a montré une relation dose-réponse croissante entre l'exposition au total des THMs mais un risque diminué de retard de croissance pour des niveaux intermédiaires de TCAA. L'étude de (Hoffman et al. 2008b) n'a mis en évidence une association entre l'exposition au TCAA et aux THMs (mesures ad hoc dans les réseaux) durant le 3^{ème} trimestre de grossesse et le risque de retard de croissance que pour les niveaux d'exposition les plus élevés de THMs (concentrations ≥ 80 µg/L versus < 80 µg/L). L'étude de (Porter et al. 2005) a observé une augmentation du risque de SGA et celle de (Hinckley et al. 2005b) une augmentation du risque de petit poids de naissance pour les expositions au TCAA dans l'eau les plus élevées, mais pas d'association cohérente avec les niveaux de THMs dans les réseaux. L'étude de (Horton et al. 2011), en utilisant des mesures de THMs et de HAAs hebdomadaires ad-hoc dans les réseaux au 3^{ème} trimestre, n'a pas montré d'association avec le risque de RCIU. L'article ne présente pas de résultats par sous-type de HAAs.

La dernière étude publiée récemment par (Levallois et al. 2012) présente des améliorations de la mesure de l'exposition aux THMs et HAAs. Les auteurs ont réalisé des mesures mensuelles ad hoc sur les réseaux et ont attribué les mesures les plus proches temporellement et géographiquement des domiciles des femmes enceintes au 3^{ème} trimestre. Des doses internes personnalisées de THMs et de HAAs ont été estimées à l'aide de modèles pharmaco-cinétiques (modèles PBTK) qui intègrent les caractéristiques physiologiques des femmes. Cette étude est de

plus la seule à tenir compte de la quantité de THMs présents dans l'air. Les résultats obtenus montrent une augmentation du risque de retard de croissance intra-utérin pour des valeurs de TTHM supérieures à 80 µg/L (OR=1,5 [1,1-1,9] par rapport à un TTHM<80 µg/L) et un niveau de TTHM ingéré de 41,2 µg/jour (OR=1,4 [1,0-1,9] par rapport à un TTHM<2,7 µg/jour). Mais aucune relation dose-réponse ne se dégage réellement et la voie d'exposition normalement dominante pour les THMs (bains et douches) n'est pas associée au risque de SGA. On n'observe aucune différence de niveaux de risque entre les THMs bromés et le CLF ingérés, alors que nous constatons dans notre étude des risques plus élevés pour l'exposition aux bromés (via les douches et les bains). Concernant les HAAs, les derniers quartiles du niveau environnemental du total des 5 HAAs et du TCAA sont associés à une augmentation significative du risque de SGA (OR=1,4 [1,0-1,9] et OR=1,4 [1,0-1,8] par rapport au premier quartile d'exposition), mais il n'apparaît pas de relation dose-réponse claire. En revanche, une relation dose-réponse apparaît pour l'ingestion des HAA5 et les derniers quartiles des TCAA et DCAA ingérés sont associés à un risque accru de SGA (OR=1,3 [1,0-1,8] et OR=1,4 [1,1-1,9]). Il est remarquable (et surprenant) que les ORs associés aux mesures d'exposition intégrant les différentes voies (doses internes) ne soient pas plus élevés que les ORs associés aux « simples » mesures environnementales.

Les résultats de ces différentes études ne permettent pas d'identifier clairement la famille de SPCs (THMs ou HAAs) potentiellement la plus associée au risque de RCIU.

Quelle est la période d'exposition pertinente ? (fenêtre de vulnérabilité)

Dans notre étude, nous n'avons pas observé de différences notables dans nos résultats quant aux associations entre le risque de RCIU et l'exposition environnementale aux THMs au cours des 3 trimestres de grossesse. Les usages de l'eau ont été estimés en début de grossesse ou en moyenne sur toute la grossesse et supposés constants au cours des trimestres, seuls les niveaux environnementaux distinguent les expositions au cours des trimestres. Le TCAA urinaire n'a été quant à lui estimé qu'en début de grossesse, avant la 19^{ème} semaine d'aménorrhée et correspond donc à une exposition au cours du 1^{er} trimestre. En ce qui concerne le risque de prématurité, l'absence d'association est observée pour les 3 trimestres.

Dans les publications étudiant le risque de retard de croissance intra-utérin, c'est le 3^{ème} trimestre qui est le plus souvent considéré a priori comme la période critique car elle correspond à une phase de croissance importante pour le fœtus (sa taille quadruple sur cette période). Or il est maintenant admis que le processus biologique entraînant un retard de croissance peut opérer

dès le début de la grossesse (Smith 2004), (Bukowski et al. 2007) et donc être engendré par une exposition en début de grossesse. Peu d'études permettent de comparer les effets de l'exposition selon les trimestres. Celle de (Porter et al. 2005) ne montre aucun effet de l'exposition aux THMs et HAAs pour aucun des trimestres considérés. L'étude de (Wright et al. 2003) montre un accroissement significatif du risque de SGA pour une exposition au 2^{ème} trimestre seulement. L'étude de (Hinckley et al. 2005b) décompose le 3^{ème} trimestre en périodes plus fines de 3 semaines ([25-28] SA, [29-32] SA, [33-36] SA, [37-40] SA). Un effet significatif de l'exposition à l'acide dibromoacétique pendant les semaines 33 à 40 est observé, de même qu'une exposition à l'acide dichloroacétique au cours des semaines 37 à 40. Mais ces résultats isolés ne trouvent pas d'explication biologique satisfaisante et pourraient être liés au hasard (nombre de tests importants). On peut donc considérer qu'à ce jour, la période spécifique de vulnérabilité à l'exposition aux SPCs pour la restriction de croissance n'est pas encore établie.

Les études consacrées au risque prématurité sont plus nombreuses à considérer le 2^{ème} trimestre comme période de vulnérabilité (Hoffman et al. 2008a), (Horton et al. 2011), (Lewis et al. 2007), (Villanueva et al. 2011), avec l'hypothèse que la naissance prématurée au cours du 3^{ème} trimestre de grossesse pourrait résulter d'une exposition au cours du trimestre précédent. L'étude de (Lewis et al. 2007) montre une diminution du risque de prématurité spécifiquement associée à l'exposition aux niveaux environnementaux de TTHM au cours du 2^{ème} trimestre (les expositions au cours des 1^{er} et 3^{ème} trimestres sont aussi étudiées). Mais l'absence d'association globalement observée dans les autres études entre l'exposition aux SPCs et le risque de prématurité ne semble pas liée au trimestre d'exposition considéré.

Des publications postérieures à notre étude

Depuis la publication de nos résultats, trois nouvelles études s'intéressant au retard de restriction de croissance en lien avec l'exposition aux SPCs ont été publiées : deux études n'utilisant que les THMs (Danileviciute et al. 2012) , (Summerhayes et al. 2012) et l'étude de (Levallois et al. 2012) que nous venons d'évoquer, qui analyse l'exposition aux THMs et aux HAAs.

L'étude de cohorte lituanienne de (Danileviciute et al. 2012) estime une dose interne des différents THMs (ingestion, douches, bains). Les niveaux environnementaux de THMs dans cette étude sont très faibles par rapport aux autres études européennes. Aucune association

significative n'est observée avec le risque de retard de croissance intra-utérin, malgré des niveaux d'OR élevés (de l'ordre de 1,30) pour le TTHM, les THMs individuels (hors BRF).

L'étude rétrospective de (Summerhayes et al. 2012) montre une association entre l'exposition environnementale aux SPCs au 3^{ème} trimestre (mesures mensuelles sur les réseaux) et le risque de retard de croissance (SGA). Les risques relatifs estimés pour une variation d'un intervalle inter-quartile sont faibles (1,03 [1,01-1,05] pour le TTHM ; 1,04 [1,02-1,06] pour le CLF et 1,02 [1,01-1,04] pour le BDCM). Les usages de l'eau ne sont pas étudiés. L'étude montre une interaction avec le tabagisme maternel pendant la grossesse: l'association avec les THMs est observée uniquement chez les non-fumeuses (RR de l'ordre de 1,05). Les RR sont significativement inférieurs à 1 chez les non-fumeuses (RR de l'ordre de 0,95).

Notre étude suggère une association entre l'exposition prénatale aux SPCs et le risque de RCIU en cohérence avec la dernière méta-analyse publiée (Grellier et al. 2010), mais la significativité statistique n'est pas atteinte dans la plupart des résultats que nous avons obtenus. Deux types de mesure de l'exposition qui présentent chacun des limites pouvant expliquer ce manque de significativité (erreurs de classement non-différentielles, limite de détection élevée du biomarqueur) ont été utilisés. Cette première expérience d'utilisation d'un biomarqueur tel que le TCAA urinaire nous en a montré les limites et difficultés. Elle nous encourage cependant à en renouveler l'utilisation dans des conditions plus contrôlées permettant une exploitation plus complète de son potentiel (utilisation de méthodes analytiques plus sensibles, collecte de 2 mesures urinaires et de données concernant les niveaux de TCAA dans les réseaux d'eau distribuée).

Deux familles de SPCs ont été utilisées, mais il n'est pas possible à l'issue de cette étude de conclure quant à l'implication plus importante de l'une ou l'autre dans l'induction des risques de RCIU observés. De même, les résultats obtenus avec des fenêtres d'exposition aux THMs différentes (les 3 trimestres) sont apparus très similaires et ne permettent pas de conclure à une période de susceptibilité spécifique. Enfin, la voie d'exposition par les douches et les bains semble

être associée à des augmentations de risque de RCIU plus marquées que les autres voies. Cependant, le TCAA urinaire qui est un marqueur de l'exposition par ingestion montre aussi une association avec le risque de RCIU.

Nos résultats concernant la prématurité sont cohérents avec la méta-analyse de (Grellier et al. 2010) qui concluait à une légère association inverse entre la durée de gestation et l'exposition aux THMs.

CHAPITRE 4

DISCUSSION/CONCLUSION

Depuis plus de 30 ans, la recherche sur les SPCs a permis de faire émerger des résultats issus d'approches toxicologiques et épidémiologiques pouvant éclairer les arbitrages des décideurs de santé publique entre les bénéfices et les risques sanitaires associés au traitement de l'eau potable par le chlore.

Si le bénéfice pour la population de la désinfection de l'eau est clairement établi, l'identification des risques sanitaires associés à l'exposition de la population aux SPCs est loin d'être achevée. De manière générale, la caractérisation d'un risque sanitaire suppose la mise en évidence d'une toxicité chez l'humain (plausibilité biologique et identification d'un mode d'action), l'évaluation d'une relation dose-réponse et l'évaluation de l'exposition de la population (niveau environnemental et identification des voies d'exposition et de leur fréquence). Les études toxicologiques et épidémiologiques concernant les SPCs menées jusqu'à aujourd'hui ont permis de répondre seulement partiellement à ces critères. On peut sans doute considérer qu'aujourd'hui le niveau de preuve d'un risque associé à l'exposition aux SPCs est plus établi pour le cancer de la vessie que dans le domaine de la reproduction. Il reste cependant des zones d'ombre, liées aux difficultés méthodologiques rencontrées pour estimer l'exposition de la population. Certaines sont partagées par les deux domaines de la santé évoqués (cancer et reproduction), certaines sont spécifiques à l'un ou l'autre.

Les SPCs : un mélange

Les SPCs sont un mélange de produits chimiques dont les composés connus (estimés aujourd'hui entre 600 et 700) sont de plus en plus nombreux du fait de l'évolution des méthodes analytiques permettant de les quantifier et de l'évolution des stratégies de désinfection (chloramination, ozonation) mises en place pour limiter la production des premiers produits identifiés (les THMs). On estime aujourd'hui que les THMs, utilisés comme proxy de l'ensemble des SPCs dans les études sur le cancer et la reproduction, ne représentent en fait que 10% des composés organiques halogénés formés lors de la chloration et que 50% de ces derniers n'ont pas encore été identifiés chimiquement (Richardson et al. 2007). Les individus inclus dans les études épidémiologiques sont exposés de fait à des mélanges complexes et la mesure d'exposition avec laquelle on recherche une éventuelle association n'est peut-être pas représentative de l'exposition au produit spécifiquement responsable de l'effet attendu, s'il existe. Les concentrations relatives des différents SPCs dans le mélange global varient considérablement et les corrélations d'un

certain nombre de SPCs non réglementés avec le niveau global de THMs sont assez faibles (Villanueva et al. 2012) et varient selon le type d'eau utilisé. Cette situation pourrait en partie expliquer des divergences de résultats d'études épidémiologiques utilisant le même indicateur d'exposition (par exemple le taux de TTHM), mais dans des contextes de qualité d'eau différents.

La question de l'existence même d'un seul produit responsable des effets sanitaires doit de plus être posée. Il est possible en effet que ce soit plutôt un mélange de sous-produits (déjà connus ou encore inconnus) qui génère la toxicité chez l'homme. Jusqu'à présent, que ce soit en toxicologie ou en épidémiologie, l'approche produit par produit a été dominante. Dans le domaine de l'épidémiologie environnementale, une évolution de paradigme vers une approche multi-polluants semble actuellement s'opérer (Kortenkamp 2007), (Kortenkamp et al. 2007). Cette évolution se heurte à un certain nombre de difficultés méthodologiques et techniques importantes.

Dans le domaine des SPCs, un projet mené par l'US-EPA, appelé « Integrated Disinfection Byproducts Mixtures Research Project » (the 4Lab Study) est en cours (Simmons et al. 2008), (Richardson et al. 2008). Il a pour ambition de tester la toxicité chez l'animal de mélanges de SPCs réellement observés dans les eaux distribuées, après concentration. Ce type d'analyses doit permettre de comprendre les effets propres et conjoints (additifs, synergiques ou antagonistes) des différents SPCs présents et d'identifier les mélanges de SPCs à cibler lors de futures études épidémiologiques.

L'existence d'autres polluants dans l'eau

Les SPCs sont des contaminants de l'eau et d'autres polluants sont présents dans les eaux distribuées tels que des métaux (arsenic, plomb, aluminium), des pesticides (insecticides organophosphorés, herbicides triazines), des nitrates, des PFCs (PFOA, PFOS), des produits pharmaceutiques (paracétamol, antibiotiques), des perturbateurs endocriniens (phénols et phthalates), de l'arsenic. La plupart d'entre eux font aussi l'objet d'études impliquant les mêmes effets sanitaires (reprotoxicité), y compris au sein des mêmes études qui s'intéressent aux SPCs (Villanueva et al. 2005) (Chevrier et al. 2011). Les corrélations entre les concentrations en SPCs et les autres polluants de l'eau n'ont pas encore été étudiées de manière approfondie. Or certains déterminants des teneurs en THMs comme la quantité et la nature de la MON présente dans les eaux brutes ou la saison (température, pluviométrie) sont potentiellement liés aux teneurs en pesticides, par exemple. Les co-expositions aux SPCs et aux autres polluants via l'eau distribuée

sont donc une piste à explorer dans de futurs travaux. Pour cela, des données sur les niveaux de ces différents polluants dans l'eau sont nécessaires.

L'accès à des mesures de polluants dans l'eau

Dans le domaine de la santé reproductive la faible latence entre l'exposition (pendant la grossesse) et les effets permet d'envisager une collecte ad-hoc des concentrations des produits d'intérêt dans les eaux distribuées afin d'estimer l'exposition environnementale. Cette démarche est cependant coûteuse, en particulier dans les cohortes de grande taille.

Dans le domaine du cancer, la période de latence est importante (plusieurs dizaines d'année) et cette approche n'est pas envisageable. La question de la reconstitution des expositions est cruciale et l'utilisation de bases de données réglementaires et/ou d'informations sur l'historique des sources d'eau et les techniques de désinfection employées est incontournable. Les études menées jusqu'à présent ont nécessité de remonter à des années pour lesquelles l'existence des SPCs n'était pas soupçonnée et donc pas mesurée. Les estimations des expositions sont donc sujettes à une part importante d'erreur de mesure, certes non-différentielle, mais capable de compromettre la mise en évidence d'un éventuel effet. On peut alors penser que les années qui viennent permettront d'utiliser des bases de données plus riches en données (les cancers incidents des années 2010 à 2020 correspondant à des expositions remontant jusqu'aux années 1970-1980). Actuellement, les réglementations et pratiques de surveillance diffèrent d'un pays à l'autre. Les Etats-Unis disposent de systèmes d'information alimentés régulièrement depuis les années 1975 (la National Organics Monitoring Survey, American Water Works Association (Awwa) Foundation THM survey et les bases mises en place dans le cadre de l'Information Collection Rule – ICR gérées par l'Environmental Protection Agency (US-EPA)). En France, en revanche, la problématique des SPCs n'a été intégrée que tardivement, la fréquence de mesure des THMs n'est pas fixée par la loi et ils ne sont répertoriés de façon réglementaire dans la base SISE-Eaux que depuis 2004 (Arrêté de 2003). L'accès aux mesures effectuées par les entreprises distributrices d'eau se révèle d'autre part difficile à négocier. Si l'on souhaite pouvoir mener d'autres études dans lesquelles la mesure de l'exposition soit améliorée, il convient donc de se doter d'un système d'informations efficace qui soit exploitable pour des études épidémiologiques. En ce qui concerne les THMs, une fréquence de 4 mesures annuelles semble permettre d'estimer correctement le niveau de THMs présent dans les réseaux au cours des saisons. L'élargissement de ces mesures à d'autres produits que les THMs (aux HAAs, notamment) est aussi souhaitable, compte tenu de la

mise en évidence d'autres SPCs potentiellement impliqués dans les effets sanitaires. Cependant, les produits cibles prioritaires pour la surveillance sanitaire ne sont aujourd'hui pas encore définis.

Les mécanismes biologiques impliqués dans les effets sanitaires de l'exposition aux SPCS

L'identification des mécanismes biologiques reliant l'exposition aux SPCs aux effets sanitaires en termes de cancer et de reproduction est un des éléments indispensables à développer pour établir un lien de causalité éventuel et éclairer les résultats des études épidémiologiques. Les mécanismes potentiellement impliqués dans l'impact des SPCs sur le cancer de la vessie et la croissance fœtale ne sont aujourd'hui toujours pas clairement identifiés. Plusieurs mécanismes ont été évoqués dans la littérature (Nieuwenhuijsen et al. 2009a). Ils impliquent des aspects de génotoxicité, de stress oxydatif, de rupture du métabolisme des folates, de rupture de la synthèse et/ou de la sécrétion de gonadotrophine chorionique.

Nous avons rappelé dans la section II.4.1 les résultats d'une évaluation de la génotoxicité de 85 SPCs (dont 11 soumis actuellement à régulation) (Richardson et al. 2007). Les composés bromés (dont les 3 THMs bromés) montrent en général une plus grande génotoxicité et carcinogénicité que les composés chlorés. Les voies de bioactivation communes aux THMs bromés rendent possible la formation de métabolites qui interagissent avec l'ADN au niveau du foie et du colon chez les rongeurs et les humains (Ross and Pegram 2004).

Plusieurs études ont montré que le stress oxydatif maternel pendant la grossesse jouait un rôle néfaste pour le développement fœtal. Des concentrations élevées de biomarqueurs de stress oxydatif dans les urines maternelles ont été associées à un plus petit poids de naissance (Scholl and Stein 2001; Kim et al. 2005), à la restriction de croissance (RCIU), la pré-éclampsie, le diabète gestationnel dus à une augmentation de l'apoptose du trophoblaste et des altérations de la réactivité vasculaire placentaire (Myatt and Cui 2004). Or, deux études *in vitro* sur des cellules humaines hépatiques ont suggéré un effet sur le stress oxydatif de l'exposition au chloroforme (Beddowes et al. 2003) et à de l'eau chlorée (Yuan et al. 2005). Cet effet peut se produire par l'intermédiaire des métabolites des SPCs : le métabolisme du chloroforme génère des radicaux libres, le chloroforme est métabolisé par oxydation grâce à l'enzyme CYP2E1 en phosgène qui est très réactif et peut induire un stress oxydatif. D'autres composés comme le TCAA, le DCAA et le trichloroéthanol ont aussi été associés à un marqueur de stress oxydatif (peroxydation lipidique).

Les folates et l'acide folique jouent un rôle important dans la synthèse, la réparation et le fonctionnement de l'ADN et sont nécessaires pour la prolifération des cellules. Les cellules fœtales et les cellules du côlon qui connaissent un renouvellement très rapide en ont donc particulièrement besoin. De faibles niveaux de folates ont été associés à diverses formes de cancer et d'anomalies congénitales (comme les anomalies du tube neural). Le chloroforme et le TCAA ont été associés à une inhibition de la voie métabolique méthionine-homocystéine, induisant un déficit en vitamine B12 et par conséquent un déficit en folates.

Les trophoblastes sont la seule source de gonadotrophine chorionique pendant la grossesse. Or, un déficit de cette hormone bioactive peut avoir des effets néfastes sur l'issue de la grossesse, notamment en termes de croissance fœtale. Une étude a montré que le BDCM pouvait réduire la sécrétion de cette hormone (Chen et al. 2004) par le trophoblaste placentaire.

Ces différents mécanismes biologiques rendent donc plausible une association causale entre l'exposition aux SPCs et les effets sanitaires indésirables observés dans les études épidémiologiques.

Implication des connaissances actuelles pour les politiques de santé publique

Même si la quantification des risques sanitaires associés à l'exposition de la population aux SPCs n'est pas encore finalisée, l'augmentation du risque de cancer de la vessie et de certaines issues de grossesse défavorables observée dans les études épidémiologiques en relation avec l'exposition aux SPCs à des niveaux d'exposition environnementale inférieurs aux seuils en vigueur actuellement (80 µg/L ou 100 µg/L pour le total des THMs) suggère la mise en œuvre de mesures permettant de limiter l'exposition de la population. Même si le niveau de risque apparaît modeste en comparaison avec les autres causes de cancer ou d'issues défavorables de grossesse, le nombre de personnes concernées est potentiellement très important dans la population et par conséquent le risque attribuable potentiellement élevé. La mise en comparaison avec le risque sanitaire représenté par la présence d'agents pathogènes dans les réseaux d'eau est quant à elle sans appel : l'OMS estime aujourd'hui que le risque de décès suite à l'exposition à des agents pathogènes est au moins 100 fois à 1000 fois plus important que le risque de mourir d'un cancer de la vessie et que le risque d'être atteint par une maladie liée à des agents pathogènes est au moins 10 000 à 1 million de fois plus important que celui d'être atteint d'un cancer de la vessie lié à l'exposition aux SPCs. Il est néanmoins important de considérer ces niveaux d'exposition car ils

s'ajoutent à nombre d'expositions environnementales dont l'effet cumulé peut avoir des conséquences sur la santé de la population.

Dans les pays industrialisés, la réglementation des SPCs et la fixation de seuils a permis de faire diminuer la quantité globale de SPCs dans les eaux distribuées. Nous avons vu dans le Chapitre 1 que l'identification du processus de formation des SPCs et des facteurs favorisant leur apparition permet de rechercher des processus de désinfection de l'eau limitant leur production (à l'aide de pré-traitements mécaniques, physico-chimiques). La recherche de processus de potabilisation de l'eau permettant de produire moins de sous-produits est active et fait appel à un mélange de traitements physico-chimiques poussés, d'affinage (par des charbons actifs ou des membranes) et de produits désinfectants. La mise en œuvre de ces techniques se heurte cependant à des arguments de coûts économiques, par comparaison avec la chloration qui présente encore aujourd'hui le meilleur rapport coût/efficacité en termes de désinfection de l'eau potable.

Mais la qualité de l'eau distribuée à la population ne dépend pas seulement de son traitement chimique. Il faut rappeler que la désinfection est la phase finale d'un processus qui commence par le captage d'une eau de plus ou moins bonne qualité. La quantité de produits de désinfection nécessaire est très fortement liée à la qualité des eaux naturelles et la préservation de la qualité des ressources en eau est donc finalement un élément important de l'exposition de la population. Les eaux de surface (les cours d'eau) présentent des niveaux de pollution de plus en plus élevés qui nécessitent déjà une augmentation du nombre de traitements avant de les distribuer. Cette pollution est le fait des activités humaines, agricoles et industrielles. Mais on observe depuis quelques années déjà que les nappes phréatiques profondes sont aussi touchées. D'autre part, des effets du changement climatique sur la quantité globale de ressources en eau disponible, mais aussi sur la composition des eaux naturelles, leur température (en augmentation), leur acidité, leur teneur en COT et d'autres caractéristiques ont d'ores et déjà été observés (Tang et al. 2013). Ces paramètres entrent dans les déterminants de formation des SPCs et peuvent créer des situations favorables à la contamination bactériologique des eaux. La préservation de la qualité des eaux profondes est donc un enjeu majeur pour la limitation de l'exposition de la population aux sous-produits de désinfection.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- AFFSET (2010). "Evaluation des risques sanitaires liés aux piscines. Partie I: piscines réglementées."
- Aggazzotti G., Fantuzzi G., Righi E. and Predieri G. (1995). "Environmental and biological monitoring of chloroform in indoor swimming pools." J Chromatogr A 710(1): 181-190.
- Aggazzotti G., Fantuzzi G., Righi E., Tartoni P., Cassinadri T. and Predieri G. (1993). "Chloroform in alveolar air of individuals attending indoor swimming pools." Arch Environ Health 48(4): 250-254.
- Aggazzotti G., Righi E., Fantuzzi G., Biasotti B., Ravera G., Kanitz S., . . . Sciacca S. (2004). "Chlorination by-products (CBPs) in drinking water and adverse pregnancy outcomes in Italy." J Water Health 2(4): 233-247.
- Albouy-Llaty M., Thiebaugeorges O., Goua V., Magnin G., Schweitzer M., Forhan A., . . . Kaminski M. (2011). "Influence of fetal and parental factors on intrauterine growth measurements: results of the EDEN mother-child cohort." Ultrasound Obstet Gynecol 38(6): 673-680.
- Amy G., Graziano N., Craun G.F., Krasner S., Cantor K., Hildesheim M.E., . . . King W. (2006). "Improved exposure assessment on existing cancer studies." AwwaRF.
- Arbuckle T.E., Hrudey S.E., Krasner S.W., Nuckols J.R., Richardson S.D., Singer P., . . . Waller K. (2002). "Assessing exposure in epidemiologic studies to disinfection by-products in drinking water: report from an international workshop." Environ Health Perspect 110 Suppl 1: 53-60.
- AUDIPOG. (2008). "Estimation de la croissance fœtale et postnatale." from <http://www.audipog.net/>.
- Backer L.C., Ashley D.L., Bonin M.A., Cardinali F.L., Kieszak S.M. and Wooten J.V. (2000). "Household exposures to drinking water disinfection by-products: whole blood trihalomethane levels." J Expo Anal Environ Epidemiol 10(4): 321-326.
- Bader E.L., Hrudey S.E. and Froese K.L. (2004). "Urinary excretion half life of trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to chlorinated drinking water disinfection by-products." Occup Environ Med 61(8): 715-716.
- Batterman S., Huang A.-T., Wang S. and Zhang L. (2000). "Reduction of ingestion exposure to trihalomethanes due to volatilization." Environ Sci Technol 34: 4418-4424.
- Bayless W. and Andrews R.C. (2008). "Biodegradation of six haloacetic acids in drinking water." J Water Health 6(1): 15-22.
- Beddowes E.J., Faux S.P. and Chipman J.K. (2003). "Chloroform, carbon tetrachloride and glutathione depletion induce secondary genotoxicity in liver cells via oxidative stress." Toxicology 187(2-3): 101-115.
- Bell M.L. and Belanger K. (2012). "Review of research on residential mobility during pregnancy: consequences for assessment of prenatal environmental exposures." J Expo Sci Environ Epidemiol 22(5): 429-438.
- Bellar T.A., Lichtenberg J.J. and Kroner R.C. (1974). "The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters." Journal of the American Water Works Association 66: 703-706.
- Board P.G. and Anders M.W. (2005). "Human glutathione transferase zeta." Methods Enzymol 401: 61-77.

- Bolt H.M., Roos P.H. and Thier R. (2003). "The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine." Int Arch Occup Environ Health 76(3): 174-185.
- Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T. and Rothstein H.R. (2009). Introduction to Meta-Analysis. Chichester, UK, Wiley & Sons.
- Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T. and Rothstein H.R. (2010). "A basic introduction to fixed-effect and random-effect models for meta-analysis." Research Synthesis Methods 1: 97-111.
- Bove F.J., Fulcomer M.C., Klotz J.B., Esmart J., Dufficy E.M. and Savrin J.E. (1995). "Public drinking water contamination and birth outcomes." Am J Epidemiol 141(9): 850-862.
- Bove G.E., Jr., Rogerson P.A. and Vena J.E. (2007). "Case-control study of the effects of trihalomethanes on urinary bladder cancer risk." Arch Environ Occup Health 62(1): 39-47.
- Bray F., Ren J.S., Masuyer E. and Ferlay J. (2013). "Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008." Int J Cancer 132(5): 1133-1145.
- Bukowski R., Smith G.C., Malone F.D., Ball R.H., Nyberg D.A., Comstock C.H., . . . D'Alton M.E. (2007). "Fetal growth in early pregnancy and risk of delivering low birth weight infant: prospective cohort study." BMJ 334(7598): 836.
- Calafat A.M., Kuklenyik Z., Caudill S.P. and Ashley D.L. (2003). "Urinary levels of trichloroacetic acid, a disinfection by-product in chlorinated drinking water, in a human reference population." Environ Health Perspect 111(2): 151-154.
- Calderon R.L. (2000). "The epidemiology of chemical contaminants of drinking water." Food Chem Toxicol 38(1 Suppl): S13-20.
- Cantor K.P., Lynch C.F., Hildesheim M.E., Dosemeci M., Lubin J., Alavanja M. and Craun G. (1998). "Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer." Epidemiology 9(1): 21-28.
- Cantor K.P., Villanueva C.M., Silverman D.T., Figueroa J.D., Real F.X., Garcia-Closas M., . . . Kogevinas M. (2010). "Polymorphisms in GSTT1, GSTZ1, and CYP2E1, disinfection by-products, and risk of bladder cancer in Spain." Environ Health Perspect 118(11): 1545-1550.
- Cardador M.J. and Gallego M. (2011). "Haloacetic acids in swimming pools: swimmer and worker exposure." Environ Sci Technol 45(13): 5783-5790.
- Carrasco-Turigas G., Villanueva C.M., Goni F., Rantakokko P. and Nieuwenhuijsen M.J. (2013). "The effect of different boiling and filtering devices on the concentration of disinfection by-products in tap water." J Environ Public Health 2013: 959480.
- Chen J., Thirkill T.L., Lohstroh P.N., Bielmeier S.R., Narotsky M.G., Best D.S., . . . Douglas G.C. (2004). "Bromodichloromethane inhibits human placental trophoblast differentiation." Toxicol Sci 78(1): 166-174.
- Chen W.J. and Weisel C.P. (1998). "Halogenated DBP concentrations in a distribution system." Journal of the American Water Works Association 90(4): 151-163.
- Chevrier C., Junod B. and Cordier S. (2004). "Does ozonation of drinking water reduce the risk of bladder cancer?" Epidemiology 15(5): 605-614.
- Chevrier C., Limon G., Monfort C., Rouget F., Garlantezec R., Petit C., . . . Cordier S. (2011). "Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort." Environ Health Perspect 119(7): 1034-1041.
- Chu H. and Nieuwenhuijsen M.J. (2002). "Distribution and determinants of trihalomethane concentrations in indoor swimming pools." Occup Environ Med 59(4): 243-247.
- Cochran W.G. (1954). "The combination of estimates from different experiments." Biometrics 10: 101-129.

- Cordier S., Clavel J., Limasset J.C., Boccon-Gibod L., Le Moual N., Mandereau L. and Hemon D. (1993). "Occupational risks of bladder cancer in France: a multicentre case-control study." Int J Epidemiol 22(3): 403-411.
- Cutler D. and Miller G. (2005). "The role of public health improvements in health advances: the twentieth-century United States." Demography 42(1): 1-22.
- d'Errico A., Malats N., Vineis P. and Boffetta P. (1999). "Review of studies of selected metabolic polymorphisms and cancer." IARC Sci Publ(148): 323-393.
- Danileviciute A., Grazuleviciene R., Vencloviene J., Paulauskas A. and Nieuwenhuijsen M.J. (2012). "Exposure to drinking water trihalomethanes and their association with low birth weight and small for gestational age in genetically susceptible women." Int J Environ Res Public Health 9(12): 4470-4485.
- de Chazeron I., Llorca P.M., Ughetto S., Vendittelli F., Boussiron D., Sapin V., . . . Lemery D. (2008). "Is pregnancy the time to change alcohol consumption habits in France?" Alcohol Clin Exp Res 32(5): 868-873.
- Dehon B., Humbert L., Devisme L., Stievenart M., Mathieu D., Houdret N. and Lhermitte M. (2000). "Tetrachloroethylene and trichloroethylene fatality: case report and simple headspace SPME-capillary gas chromatographic determination in tissues." J Anal Toxicol 24(1): 22-26.
- DerSimonian R. and Laird N. (1986). "Meta-analysis in clinical trials." Control Clin Trials 7(3): 177-188.
- DGS (1995). "La qualité de l'eau potable en France - Aspects sanitaires et réglementaires." Ministère de la Santé et des Solidarités.
- Diggle P.J., Liang K.Y. and Zeger S.L. (1994). Analysis of longitudinal data. Oxford, Clarenton Press.
- Dodds L., King W., Allen A.C., Armson B.A., Fell D.B. and Nimrod C. (2004). "Trihalomethanes in public water supplies and risk of stillbirth." Epidemiology 15(2): 179-186.
- Dodds L., King W., Woolcott C. and Pole J. (1999). "Trihalomethanes in public water supplies and adverse birth outcomes." Epidemiology 10(3): 233-237.
- Doyle T.J., Zheng W., Cerhan J.R., Hong C.P., Sellers T.A., Kushi L.H. and Folsom A.R. (1997). "The association of drinking water source and chlorination by-products with cancer incidence among postmenopausal women in Iowa: a prospective cohort study." Am J Public Health 87(7): 1168-1176.
- Dufour A.P., Evans O., Behymer T.D. and Cantu R. (2006). "Water ingestion during swimming activities in a pool: a pilot study." J Water Health 4(4): 425-430.
- Ego A., Subtil D., Grange G., Thiebaugeorges O., Senat M.V., Vayssiere C. and Zeitlin J. (2006). "Customized versus population-based birth weight standards for identifying growth restricted infants: a French multicenter study." Am J Obstet Gynecol 194(4): 1042-1049.
- Ferlay J., Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C. and Parkin D.M. (2010). GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10, IARC.
- Florentin A., Hautemaniere A. and Hartemann P. (2011). "Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools." Int J Hyg Environ Health 214(6): 461-469.
- Forssen U.M., Herring A.H., Savitz D.A., Nieuwenhuijsen M.J., Murphy P.A., Singer P.C. and Wright J.M. (2007). "Predictors of use and consumption of public drinking water among pregnant women." J Expo Sci Environ Epidemiol 17(2): 159-169.
- Forssen U.M., Wright J.M., Herring A.H., Savitz D.A., Nieuwenhuijsen M.J. and Murphy P.A. (2009). "Variability and predictors of changes in water use during pregnancy." J Expo Sci Environ Epidemiol 19(6): 593-602.

- Froese K.L., Sinclair M.I. and Hrudey S.E. (2002). "Trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to disinfection by-products in drinking water: a human exposure trial in Adelaide, Australia." Environ Health Perspect 110(7): 679-687.
- Gallagher M.D., Nuckols J.R., Stallones L. and Savitz D.A. (1998). "Exposure to trihalomethanes and adverse pregnancy outcomes." Epidemiology 9(5): 484-489.
- Garcia-Closas M., Malats N., Silverman D., Dosemeci M., Kogevinas M., Hein D.W., . . . Rothman N. (2005). "NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses." Lancet 366(9486): 649-659.
- Garlantezec R., Multigner L., Labat L., Bonvallot N., Pulkkinen J., Dananche B., . . . Cordier S. (2011). "Urinary biomarkers of exposure to glycol ethers and chlorinated solvents during pregnancy: determinants of exposure and comparison with indirect methods of exposure assessment." Occup Environ Med.
- Gordon S.M., Wallace L.A., Callahan P.J., Kenny D.V. and Brinkman M.C. (1998). "Effect of water temperature on dermal exposure to chloroform." Environ Health Perspect 106(6): 337-345.
- Graves C.G., Matanoski G.M. and Tardiff R.G. (2001). "Weight of evidence for an association between adverse reproductive and developmental effects and exposure to disinfection by-products: a critical review." Regul Toxicol Pharmacol 34(2): 103-124.
- Grazuleviciene R., Nieuwenhuijsen M.J., Vencloviene J., Kostopoulou-Karadanelli M., Krasner S.W., Danileviciute A., . . . Kapustinskiene V. (2011). "Individual exposures to drinking water trihalomethanes, low birth weight and small for gestational age risk: a prospective Kaunas cohort study." Environ Health 10: 32.
- Greenland S. (1987). "Quantitative methods in the review of epidemiologic literature." Epidemiol Rev 9: 1-30.
- Grellier J., Bennett J., Patelarou E., Smith R.B., Toledano M.B., Rushton L., . . . Nieuwenhuijsen M.J. (2010). "Exposure to disinfection by-products, fetal growth, and prematurity: a systematic review and meta-analysis." Epidemiology 21(3): 300-313.
- Gu J. and Wu X. (2011). "Genetic susceptibility to bladder cancer risk and outcome." Per Med 8(3): 365-374.
- Hinckley A.F., Bachand A.M., Nuckols J.R. and Reif J.S. (2005a). "Identifying public water facilities with low spatial variability of disinfection by-products for epidemiological investigations." Occup Environ Med 62(7): 494-499.
- Hinckley A.F., Bachand A.M. and Reif J.S. (2005b). "Late pregnancy exposures to disinfection by-products and growth-related birth outcomes." Environ Health Perspect 113(12): 1808-1813.
- Hoffman C.S., Mendola P., Savitz D.A., Herring A.H., Loomis D., Hartmann K.E., . . . Olshan A.F. (2008a). "Drinking water disinfection by-product exposure and duration of gestation." Epidemiology 19(5): 738-746.
- Hoffman C.S., Mendola P., Savitz D.A., Herring A.H., Loomis D., Hartmann K.E., . . . Olshan A.F. (2008b). "Drinking water disinfection by-product exposure and fetal growth." Epidemiology 19(5): 729-737.
- Horton B.J., Luben T.J., Herring A.H., Savitz D.A., Singer P.C., Weinberg H.S. and Hartmann K.E. (2011). "The effect of water disinfection by-products on pregnancy outcomes in two southeastern US communities." J Occup Environ Med 53(10): 1172-1178.
- Hua G. and Reckhow D.A. (2007). "Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants." Water Res 41(8): 1667-1678.
- IARC (1991). "Chlorinated drinking-water; chlorination by-products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds " Vol. 52. IARC/WHO.

- IARC (1999). "Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder cancer in rodents and some other substances." Vol. 73. IARC/WHO.
- IARC (2004). "Some drinking water disinfectants and contaminants, including arsenic " Vol. 84. IARC/WHO.
- ILO (1968). "International Standard classification of occupations." International Labour Organization.
- Imbernon E. (2003). "Estimation du nombre de cas de certains cancers attribuables à des facteurs professionnels en France." INVS.
- Infante-Rivard C. (2004). "Drinking water contaminants, gene polymorphisms, and fetal growth." Environ Health Perspect 112(11): 1213-1216.
- IPCS (2000). "Disinfectants and disinfectant by-products." 216. WHO.
- Jaakkola J.J., Magnus P., Skrandal A., Hwang B.F., Becher G. and Dybing E. (2001). "Foetal growth and duration of gestation relative to water chlorination." Occup Environ Med 58(7): 437-442.
- Jeong C.H., Wagner E.D., Siebert V.R., Anduri S., Richardson S.D., Daiber E.J., . . . Plewa M.J. (2012). "Occurrence and toxicity of disinfection byproducts in European drinking waters in relation with the HIWATE epidemiology study." Environ Sci Technol 46(21): 12120-12128.
- Jo W.K., Weisel C.P. and Liroy P.J. (1990). "Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water." Risk Anal 10(4): 575-580.
- Kallen B.A. and Robert E. (2000). "Drinking water chlorination and delivery outcome-a registry-based study in Sweden." Reprod Toxicol 14(4): 303-309.
- Kanitz S., Franco Y., Patrone V., Caltabellotta M., Raffo E., Riggi C., . . . Ravera G. (1996). "Association between drinking water disinfection and somatic parameters at birth." Environ Health Perspect 104(5): 516-520.
- Keegan T., Whitaker H., Nieuwenhuijsen M.J., Toledano M.B., Elliott P., Fawell J., . . . Best N. (2001). "Use of routinely collected data on trihalomethane in drinking water for epidemiological purposes." Occup Environ Med 58(7): 447-452.
- Kerger B.D., Schmidt C.E. and Paustenbach D.J. (2000). "Assessment of airborne exposure to trihalomethanes from tap water in residential showers and baths." Risk Anal 20(5): 637-651.
- Kim H., Haltmeier P., Klotz J.B. and Weisel C.P. (1999). "Evaluation of biomarkers of environmental exposures: urinary haloacetic acids associated with ingestion of chlorinated drinking water." Environ Res 80(2 Pt 1): 187-195.
- Kim H. and Weisel C.P. (1998). "Dermal absorption of dichloro- and trichloroacetic acids from chlorinated water." J Expo Anal Environ Epidemiol 8(4): 555-575.
- Kim Y.J., Hong Y.C., Lee K.H., Park H.J., Park E.A., Moon H.S. and Ha E.H. (2005). "Oxidative stress in pregnant women and birth weight reduction." Reprod Toxicol 19(4): 487-492.
- King W.D. and Marrett L.D. (1996). "Case-control study of bladder cancer and chlorination by-products in treated water (Ontario, Canada)." Cancer Causes Control 7(6): 596-604.
- Kogevinas M., 't Mannetje A., Cordier S., Ranft U., Gonzalez C.A., Vineis P., . . . Boffetta P. (2003). "Occupation and bladder cancer among men in Western Europe." Cancer Causes Control 14(10): 907-914.
- Koivusalo M., Hakulinen T., Vartiainen T., Pukkala E., Jaakkola J.J. and Tuomisto J. (1998). "Drinking water mutagenicity and urinary tract cancers: a population-based case-control study in Finland." Am J Epidemiol 148(7): 704-712.
- Koivusalo M.T., Jaakkola J.J. and Vartiainen T. (1994). "Drinking water mutagenicity in past exposure assessment of the studies on drinking water and cancer: application and evaluation in Finland." Environ Res 64(1): 90-101.

- Kortenkamp A. (2007). "Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals." Environ Health Perspect 115 Suppl 1: 98-105.
- Kortenkamp A., Faust M., Scholze M. and Backhaus T. (2007). "Low-level exposure to multiple chemicals: reason for human health concerns?" Environ Health Perspect 115 Suppl 1: 106-114.
- Kramer M.D., Lynch C.F., Isacson P. and Hanson J.W. (1992). "The association of waterborne chloroform with intrauterine growth retardation." Epidemiology 3(5): 407-413.
- Krasner S.W. (2001). Chemistry and occurrence of disinfection by-products. Microbiological pathogens and DBPs in drinking water; Health effects and management risks. H F a R D Craun GF. Washington, DC, ISLI press: 61-209.
- Krasner S.W. (2009). "The formation and control of emerging disinfection by-products of health concern." Philos Transact A Math Phys Eng Sci 367(1904): 4077-4095.
- Krasner S.W., McGuire M.J., Jacangelo J.G., Patania N.L., Reagan K.M. and Aieta E.M. (1989). "The occurrence of disinfection by-products in US drinking water." Journal of the American Water Works Association 81(8): 41-53.
- Krasner S.W., Weinberg H.S., Richardson S.D., Pastor S.J., Chinn R., Scrimanti M.J., . . . Thruston A.D., Jr. (2006). "Occurrence of a new generation of disinfection byproducts." Environ Sci Technol 40(23): 7175-7185.
- Krasner S.W. and Wright J.M. (2005). "The effect of boiling water on disinfection by-product exposure." Water Res 39(5): 855-864.
- Le Couedic S. (1995). Modélisation de la production d'AOX lors de la préparation des eaux alimentaires. Rennes, Ecole Nationale de la Santé Publique. DEA "Chimie et Microbiologie de l'Eau".
- Le Pallouë J. and Langlais B. (1999). "State of the art of ozonation in France." Ozone:Science & Engineering 21(2): 153-162.
- Lee J., Jun M.J., Lee M.H., Eom S.W. and Zoh K.D. (2010). "Production of various disinfection byproducts in indoor swimming pool waters treated with different disinfection methods." Int J Hyg Environ Health 213(6): 465-474.
- Lee J., Kim E.S., Roh B.S., Eom S.W. and Zoh K.D. (2013). "Occurrence of disinfection by-products in tap water distribution systems and their associated health risk." Environ Monit Assess.
- Lee J., Lee D. and Sohn J. (2007). "An experimental study for chlorine residual and trihalomethane formation with rechlorination." Water Sci Technol 55(1-2): 307-313.
- Lelong N., Blondel B. and Kaminski M. (2011). "[Smoking during pregnancy in France between 1972 to 2003: Results from the national perinatal surveys]." J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 40(1): 42-49.
- Levallois P., Gingras S., Marcoux S., Legay C., Catto C., Rodriguez M. and Tardif R. (2012). "Maternal exposure to drinking-water chlorination by-products and small-for-gestational-age neonates." Epidemiology 23(2): 267-276.
- Levesque S., Rodriguez M.J., Serodes J., Beaulieu C. and Proulx F. (2006). "Effects of indoor drinking water handling on trihalomethanes and haloacetic acids." Water Res 40(15): 2921-2930.
- Lewis C., Suffet I.H., Hoggatt K. and Ritz B. (2007). "Estimated effects of disinfection by-products on preterm birth in a population served by a single water utility." Environ Health Perspect 115(2): 290-295.
- Lewis C., Suffet I.H. and Ritz B. (2006). "Estimated effects of disinfection by-products on birth weight in a population served by a single water utility." Am J Epidemiol 163(1): 38-47.
- Liang L. and Singer P.C. (2003). "Factors influencing the formation and relative distribution of haloacetic acids and trihalomethanes in drinking water." Environ Sci Technol 37(13): 2920-2928.

- Lin T.F. and Hoang S.W. (2000). "Inhalation exposure to THMs from drinking water in south Taiwan." Sci Total Environ 246(1): 41-49.
- Luben T.J., Olshan A.F., Herring A.H., Jeffay S., Strader L., Buus R.M., . . . Perreault S.D. (2007). "The healthy men study: an evaluation of exposure to disinfection by-products in tap water and sperm quality." Environ Health Perspect 115(8): 1169-1176.
- Lynberg M., Nuckols J.R., Langlois P., Ashley D., Singer P., Mendola P., . . . Forrester M.B. (2001). "Assessing exposure to disinfection by-products in women of reproductive age living in Corpus Christi, Texas, and Cobb county, Georgia: descriptive results and methods." Environ Health Perspect 109(6): 597-604.
- Lynch C.D. and Zhang J. (2007). "The research implications of the selection of a gestational age estimation method." Paediatr Perinat Epidemiol 21 Suppl 2: 86-96.
- Lynch C.F., Woolson R.F., O'Gorman T. and Cantor K.P. (1989). "Chlorinated drinking water and bladder cancer: effect of misclassification on risk estimates." Arch Environ Health 44(4): 252-259.
- MacLehose R.F., Savitz D.A., Herring A.H., Hartmann K.E., Singer P.C. and Weinberg H.S. (2008). "Drinking water disinfection by-products and time to pregnancy." Epidemiology 19(3): 451-458.
- Mamelle N., Cochet V. and Claris O. (2001). "Definition of fetal growth restriction according to constitutional growth potential." Biol Neonate 80(4): 277-285.
- McGeehin M.A., Reif J.S., Becher J.C. and Mangione E.J. (1993). "Case-control study of bladder cancer and water disinfection methods in Colorado." Am J Epidemiol 138(7): 492-501.
- McGuire M.J., McLain J.L. and Obolensky A. (2002). "Information Collection Rule Data Analysis." Awwa/AwwaRF.
- Michaud D.S., Spiegelman D., Clinton S.K., Rimm E.B., Curhan G.C., Willett W.C. and Giovannucci E.L. (1999). "Fluid intake and the risk of bladder cancer in men." N Engl J Med 340(18): 1390-1397.
- Miles A.M., Singer P.C., Ashley D.L., Lynberg M.C., Mendola P., Langlois P.H. and Nuckols J.R. (2002). "Comparison of trihalomethanes in tap water and blood." Environ Sci Technol 36(8): 1692-1698.
- Mills C.J., Bull R.J., Cantor K.P., Reif J., Hrudey S.E. and Huston P. (1998). "Health risks of drinking water chlorination by-products: report of an expert working group." Chronic Dis Can 19(3): 91-102.
- Mitch W.A., Krasner S.W., Westerhoff P. and Doston A. (2009). "Occurrence and formation of nitrogenous disinfection by-products." Water Research Foundation.
- Morales K.H., Ryan L., Kuo T.L., Wu M.M. and Chen C.J. (2000). "Risk of internal cancers from arsenic in drinking water." Environ Health Perspect 108(7): 655-661.
- Mouly D., Gayon V., Dor F., Kairo C. and Beaudeau P. (2007). "Evaluation des risques sanitaires des sous-produits de chloration de l'eau potable. Partie 2 : Estimation de l'exposition, caractérisation du risque et faisabilité d'une surveillance épidémiologique des pathologies liées à la surchloration dans la population générale." INVS.
- Mouly D., Joulin E., Rosin C., Beaudeau P., Zeghnoun A., Olszewski-Ortar A. and Munoz J.F. (2008). "Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France. Campagnes d'analyses dans quatre systèmes de distribution d'eau et modélisation de l'évolution des trihalométhanes." Institut de Veille Sanitaire (InVS).
- Mouly D., Joulin E., Rosin C., Beaudeau P., Zeghnoun A., Olszewski-Ortar A., . . . Rodriguez M.J. (2010). "Variations in trihalomethane levels in three French water distribution systems and the development of a predictive model." Water Res 44(18): 5168-5179.
- Murray F.J., Schwetz B.A., McBride J.G. and Staples R.E. (1979). "Toxicity of inhaled chloroform in pregnant mice and their offspring." Toxicol Appl Pharmacol 50(3): 515-522.

- Myatt L. and Cui X. (2004). "Oxidative stress in the placenta." *Histochem Cell Biol* 122(4): 369-382.
- Ngwenya N., Ncube E.J. and Parsons J. (2013). "Recent advances in drinking water disinfection: successes and challenges." *Rev Environ Contam Toxicol* 222: 111-170.
- Nieuwenhuijsen M.J., Grellier J., Smith R., Iszatt N., Bennett J., Best N. and Toledano M. (2009a). "The epidemiology and possible mechanisms of disinfection by-products in drinking water." *Philosophical Transactions of the Royal Society A* 367(1904): 4043-4076.
- Nieuwenhuijsen M.J., Smith R., Golfinopoulos S., Best N., Bennett J., Aggazzotti G., . . . Kogevinas M. (2009b). "Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE." *J Water Health* 7(2): 185-207.
- Nieuwenhuijsen M.J., Toledano M.B., Eaton N.E., Fawell J. and Elliott P. (2000a). "Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review." *Occup Environ Med* 57(2): 73-85.
- Nieuwenhuijsen M.J., Toledano M.B. and Elliott P. (2000b). "Uptake of chlorination disinfection by-products; a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies." *J Expo Anal Environ Epidemiol* 10(6 Pt 1): 586-599.
- Nuckols J.R., Ashley D.L., Lyu C., Gordon S.M., Hinckley A.F. and Singer P. (2005). "Influence of tap water quality and household water use activities on indoor air and internal dose levels of trihalomethanes." *Environ Health Perspect* 113(7): 863-870.
- Olsen J. and Basso O. (2005). Reproductive epidemiology - Foetal growth and birth weight. *Handbook of Epidemiology*. Springer. Berlin Heidelberg: 1072-1078.
- OMS (1993). "Guidelines for drinking water quality, volume 1: Recommendations."
- OMS (2004). "Monochloroacetic acid in drinking water." WHO.
- OMS (2005). "Dichloroacetic acid in drinking water." WHO.
- OMS (2006). "Guidelines for safe recreational waters. Volume 2. Swimming pools and similar recreational-water environments." WHO.
- Parvez S., Rivera-Nunez Z., Meyer A. and Wright J.M. (2011). "Temporal variability in trihalomethane and haloacetic acid concentrations in Massachusetts public drinking water systems." *Environ Res* 111(4): 499-509.
- Patelarou E., Kargaki S., Stephanou E.G., Nieuwenhuijsen M., Sourtzi P., Gracia E., . . . Kogevinas M. (2011). "Exposure to brominated trihalomethanes in drinking water and reproductive outcomes." *Occup Environ Med* 68(6): 438-445.
- Porter C.K., Putnam S.D., Hunting K.L. and Riddle M.R. (2005). "The effect of trihalomethane and haloacetic acid exposure on fetal growth in a Maryland county." *Am J Epidemiol* 162(4): 334-344.
- Rahman M.D., Driscoll T., Clements M., Armstrong B.K. and Cowie C.T. (2011). "Effects of tap water processing on the concentration of disinfection by-products." *J Water Health* 9(3): 507-514.
- Raimondi S., Paracchini V., Autrup H., Barros-Dios J.M., Benhamou S., Boffetta P., . . . Taioli E. (2006). "Meta- and pooled analysis of GSTT1 and lung cancer: a HuGE-GSEC review." *Am J Epidemiol* 164(11): 1027-1042.
- Reckhow D.A., Singer P. and Malcolm R.L. (1990). "Chlorination of humic material: by-products formation and chemical interpretations." *Environmental Science of Technology* 24(11): 1655-1664.
- Richardson S.D., DeMarini D.M., Kogevinas M., Fernandez P., Marco E., Lourencetti C., . . . Villanueva C.M. (2010). "What's in the pool? A comprehensive identification of disinfection by-products and assessment of mutagenicity of chlorinated and brominated swimming pool water." *Environ Health Perspect* 118(11): 1523-1530.
- Richardson S.D., Plewa M.J., Wagner E.D., Schoeny R. and DeMarini D.M. (2007). "Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in

- drinking water : A review and roadmap for research." Mutation Research 636(1-3): 178-242.
- Richardson S.D., Thruston A.D., Jr., Caughran T.V. and Chen P.H. (1999). "Identification of new ozone disinfection byproducts in drinking water." Environ Sci Technol 33: 3368-3377.
- Richardson S.D., Thruston A.D., Jr., Krasner S.W., Weinberg H.S., Miltner R.J., Schenck K.M., . . . Simmons J.E. (2008). "Integrated disinfection by-products mixtures research: comprehensive characterization of water concentrates prepared from chlorinated and ozonated/postchlorinated drinking water." J Toxicol Environ Health A 71(17): 1165-1186.
- Rivera-Nunez Z., Wright J.M., Blount B.C., Silva L.K., Jones E., Chan R.L., . . . Savitz D.A. (2012). "Comparison of trihalomethanes in tap water and blood: a case study in the United States." Environ Health Perspect 120(5): 661-667.
- Rodriguez M.J. and Serodes J.B. (2001). "Spatial and temporal evolution of trihalomethanes in three water distribution systems." Water Res 35(6): 1572-1586.
- Rodriguez M.J., Serodes J.B. and Levallois P. (2004). "Behavior of trihalomethanes and haloacetic acids in a drinking water distribution system." Water Res 38(20): 4367-4382.
- Rodriguez M.J., Vinette Y., Serodes J.B. and Bouchard C. (2003). "Trihalomethanes in drinking water of greater Quebec region (Canada): occurrence, variations and modelling." Environ Monit Assess 89(1): 69-93.
- Rook J.J. (1974). "Formation of haloforms during chlorination of natural waters." J Soc Water Treat Exam 23: 234-243.
- Ross M.K. and Pegram R.A. (2004). "In vitro biotransformation and genotoxicity of the drinking water disinfection byproduct bromodichloromethane: DNA binding mediated by glutathione transferase theta 1-1." Toxicol Appl Pharmacol 195(2): 166-181.
- Ruddick J.A., Villeneuve D.C., Chu I. and Valli V.E. (1983). "A teratological assessment of four trihalomethanes in the rat." J Environ Sci Health B 18(3): 333-349.
- Sadiq R. and Rodriguez M.J. (2004). "Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review." Sci Total Environ 321(1-3): 21-46.
- Santé Canada (1996). "Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada."
- Santé Canada (2006). "Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - Les trihalométhanes."
- Santé Canada (2008). "Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - Les acides haloacétiques."
- Santé Canada (2009). "Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - Le chlore."
- Savitz D.A., Andrews K.W. and Pastore L.M. (1995). "Drinking water and pregnancy outcome in central North Carolina: source, amount, and trihalomethane levels." Environ Health Perspect 103(6): 592-596.
- Savitz D.A., Singer P.C., Herring A.H., Hartmann K.E., Weinberg H.S. and Makarushka C. (2006). "Exposure to drinking water disinfection by-products and pregnancy loss." Am J Epidemiol 164(11): 1043-1051.
- Scholl T.O. and Stein T.P. (2001). "Oxidant damage to DNA and pregnancy outcome." J Matern Fetal Med 10(3): 182-185.
- Schwetz B.A., Leong B.K. and Gehring P.J. (1974). "Embryo- and fetotoxicity of inhaled chloroform in rats." Toxicol Appl Pharmacol 28(3): 442-451.
- Sheu C.F. and Suzuki S. (2001). "Meta-analysis using linear mixed models." Behavior research methods, instruments and computers 33(2): 102-107.
- Silverman D., Morrison A. and Devesa S. (1996). Bladder cancer. Cancer Epidemiology and Prevention. New York, Oxford University Press.

- Simmons J.E., Richardson S.D., Teuschler L.K., Miltner R.J., Speth T.F., Schenck K.M., . . . Rice G. (2008). "Research issues underlying the four-lab study: integrated disinfection by-products mixtures research." *J Toxicol Environ Health A* 71(17): 1125-1132.
- Slama R., Khoshnood B. and Kaminski M. (2008). "How to control for gestational age in studies involving environmental effects on fetal growth." *Environ Health Perspect* 116(7): A284; author reply A284-A285.
- Smith G.C. (2004). "First trimester origins of fetal growth impairment." *Semin Perinatol* 28(1): 41-50.
- Smith M.K., Randall J.L., Read E.J. and Stober J.A. (1989). "Teratogenic activity of trichloroacetic acid in the rat." *Teratology* 40(5): 445-451.
- Smith M.K., Randall J.L., Read E.J. and Stober J.A. (1992). "Developmental toxicity of dichloroacetate in the rat." *Teratology* 46(3): 217-223.
- Snijders T.A.B. and Bosker R.J. (1999). *Multilevel analysis: an introduction to basic and advanced multilevel modeling*. London, Sage Publishers.
- Stukel T.A., Demidenko E., Dykes J. and Karagas M.R. (2001). "Two-stage methods for the analysis of pooled data." *Stat Med* 20(14): 2115-2130.
- Summerhayes R.J., Morgan G.G., Edwards H.P., Lincoln D., Earnest A., Rahman B. and Beard J.R. (2012). "Exposure to trihalomethanes in drinking water and small-for-gestational-age births." *Epidemiology* 23(1): 15-22.
- Symanski E., Savitz D.A. and Singer P.C. (2004). "Assessing spatial fluctuations, temporal variability, and measurement error in estimated levels of disinfection by-products in tap water: implications for exposure assessment." *Occup Environ Med* 61(1): 65-72.
- Tang R., Clark J.M., Bond T., Graham N., Hughes D. and Freeman C. (2013). "Assessment of potential climate change impacts on peatland dissolved organic carbon release and drinking water treatment from laboratory experiments." *Environ Pollut* 173: 270-277.
- Tardiff R.G., Carson M.L. and Ginevan M.E. (2006). "Updated weight of evidence for an association between adverse reproductive and developmental effects and exposure to disinfection by-products." *Regul Toxicol Pharmacol* 45(2): 185-205.
- Thompson D.J., Warner S.D. and Robinson V.B. (1974). "Teratology studies on orally administered chloroform in the rat and rabbit." *Toxicol Appl Pharmacol* 29(3): 348-357.
- US EPA (1999). "Twenty-five Years of the Safe Drinking Water Act: History and Trends." <http://permanent.access.gpo.gov/websites/epagov/www.epa.gov/safewater/sdwa/trends.html>.
- US EPA (2000). "The History of Drinking Water Treatment." <http://www.epa.gov/safewater/consumer/pdf/hist.pdf>.
- van Houwelingen H.C., Arends L.R. and Stijnen T. (2002). "Advanced methods in meta-analysis: multivariate approach and meta-regression." *Stat Med* 21(4): 589-624.
- Vandentorren S., Dor F. and Bonvallot N. (2007). "Evaluation des risques sanitaires des sous-produits de chloration de l'eau potable. Partie 1 - Caractérisation des dangers: effets sanitaires et valeurs toxicologiques de référence." INVS.
- Villanueva C.M., Cantor K.P., Cordier S., Jaakkola J.J., King W.D., Lynch C.F., . . . Kogevinas M. (2004). "Disinfection byproducts and bladder cancer: a pooled analysis." *Epidemiology* 15(3): 357-367.
- Villanueva C.M., Cantor K.P., Grimalt J.O., Castano-Vinyals G., Malats N., Silverman D., . . . Kogevinas M. (2006). "Assessment of lifetime exposure to trihalomethanes through different routes." *Occup Environ Med* 63(4): 273-277.
- Villanueva C.M., Cantor K.P., Grimalt J.O., Malats N., Silverman D., Tardon A., . . . Kogevinas M. (2007a). "Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering, and swimming in pools." *Am J Epidemiol* 165(2): 148-156.
- Villanueva C.M., Castano-Vinyals G., Moreno V., Carrasco-Turigas G., Aragonés N., Boldo E., . . . Kogevinas M. (2012). "Concentrations and correlations of disinfection by-products in

- municipal drinking water from an exposure assessment perspective." Environ Res 114: 1-11.
- Villanueva C.M., Durand G., Coutte M.B., Chevrier C. and Cordier S. (2005). "Atrazine in municipal drinking water and risk of low birth weight, preterm delivery, and small-for-gestational-age status." Occup Environ Med 62(6): 400-405.
- Villanueva C.M., Fernandez F., Malats N., Grimalt J.O. and Kogevinas M. (2003). "Meta-analysis of studies on individual consumption of chlorinated drinking water and bladder cancer." J Epidemiol Community Health 57(3): 166-173.
- Villanueva C.M., Gagniere B., Monfort C., Nieuwenhuijsen M.J. and Cordier S. (2007b). "Sources of variability in levels and exposure to trihalomethanes." Environ Res 103(2): 211-220.
- Villanueva C.M., Gracia-Lavedan E., Ibarluzea J., Santa Marina L., Ballester F., Llop S., . . . Sunyer J. (2011). "Exposure to trihalomethanes through different water uses and birth weight, small for gestational age, and preterm delivery in Spain." Environ Health Perspect 119(12): 1824-1830.
- Weinberg H.S., Pereira V.R., Singer P.C. and Savitz D.A. (2006). "Considerations for improving the accuracy of exposure to disinfection by-products by ingestion in epidemiologic studies." Sci Total Environ 354(1): 35-42.
- Weisel C.P. and Chen W.J. (1994). "Exposure to chlorination by-products from hot water uses." Risk Anal 14(1): 101-106.
- Weisel C.P. and Jo W.K. (1996). "Ingestion, inhalation, and dermal exposures to chloroform and trichloroethene from tap water." Environ Health Perspect 104(1): 48-51.
- Weisel C.P., Kim H., Haltmeier P. and Klotz J.B. (1999). "Exposure estimates to disinfection by-products of chlorinated drinking water." Environ Health Perspect 107(2): 103-110.
- Whitaker H., Nieuwenhuijsen M.J., Best N., Fawell J., Gowers A. and Elliot P. (2003a). "Description of trihalomethane levels in three UK water suppliers." J Expo Anal Environ Epidemiol 13(1): 17-23.
- Whitaker H.J., Nieuwenhuijsen M.J. and Best N.G. (2003b). "The relationship between water concentrations and individual uptake of chloroform: a simulation study." Environ Health Perspect 111(5): 688-694.
- White G.C., Ed. (1999). Handbook of chlorination and alternative disinfectants. New York, John Wiley & Sons.
- Wigle D.T. (2000). "Safe drinking water: a public health challenge." Chronic Dis Can 19(3).
- Windham G.C., Waller K., Anderson M., Fenster L., Mendola P. and Swan S. (2003). "Chlorination by-products in drinking water and menstrual cycle function." Environ Health Perspect 111(7): 935-941; discussion A409.
- Wright J.M., Schwartz J. and Dockery D.W. (2003). "Effect of trihalomethane exposure on fetal development." Occup Environ Med 60(3): 173-180.
- Wright J.M., Schwartz J. and Dockery D.W. (2004). "The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration." Environ Health Perspect 112(8): 920-925.
- Wu W.W., Benjamin M.M. and Korshin G.V. (2001). "Effects of thermal treatment on halogenated disinfection by-products in drinking water." Water Res 35(15): 3545-3550.
- Xu X., Mariano T.M., Laskin J.D. and Weisel C.P. (2002). "Percutaneous absorption of trihalomethanes, haloacetic acids, and haloketones." Toxicol Appl Pharmacol 184(1): 19-26.
- Xu X. and Weisel C.P. (2003). "Inhalation exposure to haloacetic acids and haloketones during showering." Environ Sci Technol 37(3): 569-576.
- Xu X. and Weisel C.P. (2005). "Human respiratory uptake of chloroform and haloketones during showering." J Expo Anal Environ Epidemiol 15(1): 6-16.

- Yang C.Y. (2004). "Drinking water chlorination and adverse birth outcomes in Taiwan." Toxicology 198(1-3): 249-254.
- Yang C.Y., Cheng B.H., Tsai S.S., Wu T.N., Lin M.C. and Lin K.C. (2000). "Association between chlorination of drinking water and adverse pregnancy outcome in Taiwan." Environ Health Perspect 108(8): 765-768.
- Yang C.Y., Xiao Z.P., Ho S.C., Wu T.N. and Tsai S.S. (2007). "Association between trihalomethane concentrations in drinking water and adverse pregnancy outcome in Taiwan." Environ Res 104(3): 390-395.
- Yuan J., Wu X.J., Lu W.Q., Cheng X.L., Chen D., Li X.Y., . . . Mersch-Sundermann V. (2005). "Chlorinated river and lake water extract caused oxidative damage, DNA migration and cytotoxicity in human cells." Int J Hyg Environ Health 208(6): 481-488.
- Zhang W., Gabos S., Schopflocher D., Li X.F., Gati W.P. and Hruddy S.E. (2009). "Reliability of using urinary and blood trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to chlorinated drinking water disinfection byproducts." Biomarkers 14(6): 355-365.
- Zhou W.S., Xu L., Xie S.H., Li Y.L., Li L., Zeng Q., . . . Lu W.Q. (2012a). "Decreased birth weight in relation to maternal urinary trichloroacetic acid levels." Sci Total Environ 416: 105-110.
- Zhou Y., Tian C. and Jia C. (2012b). "A dose-response meta-analysis of coffee consumption and bladder cancer." Prev Med 55(1): 14-22.

ANNEXES

ANNEXE A – Résultats des études cas-témoins initiales incluses dans la méta-analyse sur le cancer de la vessie

Etude originale française (Chevrier et al. 2004)

Table 62. Association of bladder cancer with average THM level, cumulative exposure to THM and duration of exposure to THM whether adjusting for duration of exposure to ozonated water or not (both sexes and men only)

	No adjustment for duration of exposure to ozonated water, Both sexes	Adjustment for duration of exposure to <u>ozonated water</u> , Both sexes	Adjustment for duration of exposure to <u>ozonated water</u> , Men only
	OR* (95% CI)	OR* (95% CI)	OR* (95% CI)
Average THM level (µg/L)			
<1	1	1	1
1-5	1,09 (0,6-2,0)	1,16 (0,6-2,2)	1,32 (0,7-2,6)
6-50	1,12 (0,5-2,4)	1,88 (0,8-4,6)	1,97 (0,8-5,2)
>50	1,28 (0,5-3,0)	2,99 (1,1-8,5)	3,73 (1,2-11)
Cumulative THM level (mg)			
0	1	1	1
1-150	1,03 (0,6-1,9)	1,08 (0,6-2,0)	1,20 (0,6-2,3)
151-1500	1,00 (0,5-2,2)	1,73 (0,7-4,2)	1,82 (0,7-4,8)
>1500	1,45 (0,6-3,4)	3,39 (1,2-9,6)	3,49 (1,2-10,6)
Duration of exposure to chlorinated surface water (years)			
0	1	1	1
1-28	0,84 (0,5-1,5)	1,32 (0,6-2,7)	1,56 (0,7-3,4)
>=29	1,18 (0,7-2,1)	2,02 (1,0-4,3)	2,04 (0,9-4,6)

* Adjustment for: hospital, age, sex (model with both sexes), socio-economic status, smoking, coffee consumption, high-risk occupation, tap water consumption, Missing data on covariates not included

Etude originale finlandaise (Koivusalo et al. 1998)**Table 63. Odds-ratios and 95% CI for all those with at least 30 years of known exposure according to the approximate tertiles of exposure categories (net rev/L) and the years drinking substantially mutagenic water**

Exposure Category	Women		Men	
	OR	95% CI	OR	95% CI
Non exposed	1		1	
Low (1-999)	1,15	0,65-2,03	1,15	0,81-1,63
Medium (1000-2499)	1,33	0,74-2,39	0,97	0,67-1,41
High (≥ 2500)	1,18	0,64-2,16	1,37	0,93-2,01
Duration of exposure *				
<15	1		1	
15-29	0,92	0,49-1,72	1,07	0,73-1,55
30-44	1,19	0,53-2,64	1,67	1,01-2,78
≥ 45	1,88	0,54-6,57	2,32	0,99-5,45
30 years**	1,08	0,67-1,75	1,32	0,95-1,81

* Years of drinking substantially mutagenic water (≥ 3000 net rev/L)

Adjustment for: age, socio-economic status, smoking

** Continuous variable for exposure-years, OR calculated for 30 years of estimated exposure versus 0

Etude originale espagnole (Villanueva et al. 2007a)

Table 64, Odds-ratios and 95% CI for bladder cancer associated with average residential exposure to THM and duration of supply of chlorinated surface water

	Men OR* (95% CI)	Women OR* (95% CI)	All OR* (95% CI)
Average residential THM (µg/L)			
<=8	1	1	1
]8-26]	1,53 (0,95-2,48)	0,40 (0,13-1,27)	1,25 (0,80-1,93)
]26-49]	2,34 (1,36-4,03)	1,14 (0,31-4,10)	1,98 (1,21-3,24)
>49	2,53 (1,23-5,20)	1,50 (0,26-8,61)	2,10 (1,09-4,02)
Duration of chlorinated surface water in residence (years)			
0-3	1	1	1
]3-25]	2,26 (1,19-4,29)	2,72 (0,56-13,3)	2,17 (1,21-3,89)
]25-30]	2,58 (1,33-5,01)	2,32 (0,44-12,1)	2,36 (1,29-4,31)
>30	2,21 (1,17-4,20)	2,33 (0,51-10,6)	2,13 (1,19-3,79)
Average ingestion THM exposure (µg/day)**			
0	1	1	1
]0-10]	0,97 (0,65-1,45)	0,42 (0,13-1,38)	0,88 (0,61-1,27)
]10-35]	1,32 (0,88-1,98)	0,55 (0,17-1,77)	1,17 (0,80-1,71)
>35	1,61 (1,06-2,44)	0,47 (0,15-1,51)	1,35 (0,92-1,99)
Duration of shower/bath x average THM level (minutes/day x µg/L)			
<50	1	1	1
]50-167[1,63 (1,09-2,45)	0,41 (0,15-1,09)	1,30 (0,90-1,87)
]167-333[1,79 (1,11-2,88)	0,38 (0,11-1,24)	1,38 (0,90-2,13)
>=333	2,01 (1,23-3,28)	2,26 (0,58-8,90)	1,83 (1,17-2,87)
Swimming in pools			
Never	1	1	1
Ever	1,62 (1,20-2,19)	1,53(0,58-4,06)	1,57 (1,18-2,09)

* OR adjusted for age, gender, smoking status, education, urbanicity of longest residence until age 18, overall quality of the interview and geographic area

** Average quantity of daily ingested THM: time-weighted average of residential levels of THM (µg/L) multiplied by the daily amount of total tap water ingested (L/day)

ANNEXE B – Facteurs associés au risque de prémarité et de retard de croissance intra-utérin dans la cohorte PELAGIE

Tableau 65. Caractéristiques associées aux risques de restriction de croissance intra-utérine et de prématurité au sein de la cohorte PELAGIE ^a

	Cohorte		Cas de RCIU		P-value ^b	Cas de prématurité		P-value ^b
	N	%	N	%		N	%	
Total ^a (N)	3223		174			114		
Année d'inclusion					0,57			0,64
2002-2003	1568	48,6	85	48,9		59	51,8	
2004	1166	36,2	58	33,3		41	36,0	
2005-2006	489	15,2	31	17,8		14	12,3	
Département					0,42			0,49
Ille et Vilaine	2010	62,4	106	60,9		72	63,2	
Côtes d'Armor	904	28,0	55	31,6		28	24,6	
Finistère and Morbihan	309	9,6	13	7,5		14	12,3	
Age (années)					0,23			0,75
<25	360	11,2	25	14,4		16	14,0	
25-30	1286	39,8	57	32,8		46	40,4	
30-35	1124	34,9	67	38,5		38	33,3	
≥35	450	14,0	25	14,4		14	12,3	
Statut marital					0,004			0,52
Mariée ou en couple	3136	97,3	164	94,3		110	96,5	
Mère isolée	82	2,5	10	5,8		4	3,5	
Origine géographique					0,92			0,32
Européenne	3134	97,3	169	97,1		111	97,4	
Non-Européenne	72	2,2	4	2,3		1	0,9	
Niveau scolaire					0,01			0,51
Primaire/collège	604	18,7	47	27,0		26	22,8	
Baccalauréat	602	18,7	25	14,4		18	15,8	
Universitaire	2009	62,3	102	58,6		69	60,5	
Travail en début de grossesse					0,55			0,48
Non	485	15,0	23	13,2		20	17,5	
Oui	2733	84,8	151	86,8		94	82,5	
Age gestationnel à l'inclusion (SA)					0,55			0,93
Moy (std)	11,7 (2,4)		11,9 (2,4)			11,7 (2,3)		
Parité (nb d'enfants)					0,36			0,0003
0	1422	44,1	79	45,4		70	61,4	
1	1200	37,2	70	40,2		26	22,8	
≥2	590	18,3	25	14,4		17	14,9	

Tableau 65 (suite). Facteurs de risque de restriction de croissance intra-utérine et de prématurité au sein de la cohorte PELAGIE

	Cohorte		Cas de RCIU		P-value ^b	Cas de prématurité		P-value ^b
Total ^a (N)	N	%	N	%		N	%	
Total ^a (N)	3223		174			114		
IMC avant grossesse (kg/m ²)					0,42			0,20
<18,5	236	7,3	10	5,8		11	9,6	
18,5-25	2386	74,0	131	75,3		75	65,8	
25-30	417	12,9	20	11,5		20	17,5	
≥30	159	4,9	13	7,5		6	5,3	
Hypertension avant et/ou pendant la grossesse	176	5,5	26	14,9	<0,0001	30	26,3	<0,0001
Diabète avant et/ou pendant la grossesse	117	3,6	7	4,0	0,76	8	7,0	0,04
Consommation de tabac en début de grossesse (inclusion)					0,001			0,99
Non fumeuse	2281	70,8	113	65,0		79	69,3	
Fumeuse, ≤ 10 cig/jour	594	18,4	30	17,2		21	18,4	
Fumeuse > 10 cig/jour	311	9,6	31	17,8		11	9,7	
Consommation d'alcool en début de grossesse (inclusion)					0,07			0,12
Nulle	2711	84,1	145	83,3		101	88,6	
Occasionnelle	411	12,8	19	10,9		9	7,9	
≥ 1 boisson /jour	60	1,9	7	4,0		4	3,5	

^a N=2323 naissances vivantes uniques, sans malformations majeures, dont les mères n'exercent pas de profession les exposant aux solvants chlorés

^b Comparaison des cas et des non-cas - Test du Khi2 pour les variables catégorielles, T-test pour les variables continues

En gras, les variables liées au risque de diabète et/ou RCIU

ANNEXE C – Association entre l'exposition aux THMs et le risque de prématurité et de RCIU dans la cohorte PELAGIE– Exposition au cours des 1^{er} et 2^{ème} trimestres de grossesse

Tableau 66. Association entre les niveaux de THMs estimés dans les réseaux de distribution d'eau au cours du 1^{er} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de RCIU (étude de cohorte)

N	RCIU				Prématurité			
	Oui 171	Non 2923	OR ^a	(IC _{95%})	Oui 106	Non 2978	OR ^b	(IC _{95%})
T*THM (µg/L)								
<38	42	646	1		24	663	1	
38-48	25	634	0,58	(0,35-0,98)	26	629	1,12	(0,63-2,01)
48-56	42	637	0,97	(0,62-1,51)	22	651	0,94	(0,51-1,71)
>56	41	660	0,92	(0,59-1,45)	24	667	0,99	(0,55-1,79)
CLF (µg/L)								
<5	36	561	1		26	575	1	
5-10	35	664	0,81	(0,50-1,31)	26	667	0,87	(0,49-1,53)
10-15	42	701	0,89	(0,56-1,41)	20	715	0,57	(0,31-1,06)
>15	38	663	0,85	(0,53-1,38)	24	667	0,76	(0,42-1,36)
BRF (µg/L)								
<5	34	605	1		16	610	1	
5-7,5	38	740	0,91	(0,56-1,47)	30	739	1,54	(0,82-2,88)
7,5-10	31	566	0,95	(0,57-1,58)	24	572	1,58	(0,81-3,07)
>10	47	666	1,26	(0,79-1,99)	26	689	1,52	(0,79-2,89)
DBCM (µg/L)								
<13	39	608	1		19	628	1	
13-15	36	753	0,72	(0,45-1,15)	35	751	1,61	(0,9-2,89)
15-18	30	481	0,93	(0,57-1,53)	13	490	0,84	(0,4-1,75)
>18	46	747	0,92	(0,59-1,44)	29	755	1,36	(0,74-2,48)
BDCM (µg/L)								
<9	43	659	1		25	679	1	
9-13	26	648	0,59	(0,36-0,98)	31	640	1,31	(0,75-2,27)
13-16	45	636	1,06	(0,68-1,64)	18	655	0,76	(0,4-1,42)
>16	37	646	0,86	(0,54-1,36)	22	650	0,9	(0,49-1,63)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; TTHM: total des 4 trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

Tableau 67. Association entre les niveaux de THMs estimés dans les réseaux de distribution d'eau au cours du 2^{ème} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de RCIU (étude de cohorte)

N	RCIU			Prématurité		
	Oui 171	Non 2923	OR ^a (IC _{95%})	Oui 106	Non 2978	OR ^b (IC _{95%})
TTHM (µg/L)						
<38	44	644	1	30	656	1
38-48	27	650	0,61 (0,37-1,01)	22	650	0,79 (0,44-1,40)
48-56	38	630	0,85 (0,54-1,34)	21	638	0,74 (0,41-1,33)
>56	39	623	0,93 (0,59-1,47)	23	633	0,92 (0,52-1,63)
CLF (µg/L)						
<5	36	557	1	30	562	1
5-10	34	666	0,80 (0,49-1,31)	25	675	0,7 (0,40-1,23)
10-15	44	709	0,96 (0,61-1,52)	16	728	0,4 (0,21-0,76)
>15	37	657	0,87 (0,53-1,40)	25	659	0,72 (0,41-1,27)
BRF (µg/L)						
<5	34	611	1	27	605	1
5-7,5	42	713	1,09 (0,68-1,74)	25	719	0,78 (0,44-1,39)
7,5-10	32	559	1,08 (0,65-1,79)	16	580	0,66 (0,34-1,26)
>10	40	664	1,15 (0,71-1,85)	28	673	1,05 (0,60-1,83)
DBCM (µg/L)						
<13	43	642	1	23	659	1
13-15	34	746	0,67 (0,42-1,07)	34	733	1,37 (0,79-2,39)
15-18	18	471	0,58 (0,33-1,03)	12	477	0,81 (0,39-1,67)
>18	56	730	1,16 (0,76-1,76)	27	755	1,15 (0,64-2,05)
BDCM (µg/L)						
<9	42	632	1	27	645	1
9-13	32	695	0,72 (0,44-1,15)	29	695	1,07 (0,62-1,86)
13-16	43	640	0,99 (0,64-1,55)	14	662	0,48 (0,25-0,94)
>16	34	622	0,84 (0,52-1,34)	26	622	1,15 (0,65-2,03)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; TTHM: total des 4 trihalomethanes; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

Tableau 68. Association entre l'exposition au TTHM au cours du 1^{er} trimestre de grossesse via différentes voies (ingestion-bains et douches-piscine) et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

	RCIU				Prématurité			
	Oui	Non	OR ^a	(IC _{95%})	Oui	Non	OR ^b	(IC _{95%})
N	171	2923			106	2978		
TTHM dose totale (µg/jour)								
<0,351	8	231	1		8	229	1	
0,351-0,578	22	303	1,96	(0,85-4,51)	11	308	0,83	(0,31-2,19)
0,578-0,940	24	346	1,91	(0,84-4,35)	10	355	0,76	(0,28-2,03)
≥ 0,940	14	202	1,8	(0,73-4,43)	10	204	1,05	(0,39-2,86)
TTHM ingérés (µg/jour)								
0	21	419	1		20	419	1	
0-0,009	44	686	1,24	(0,72-2,14)	16	716	0,48	(0,24-0,95)
0,009-0,025	43	761	1,01	(0,59-1,75)	28	764	0,78	(0,42-1,43)
>0,025	41	685	1,09	(0,63-1,89)	29	685	0,93	(0,50-1,70)
TTHM via les douches et bains (µg/jour)								
<0,32	9	246	1		8	245	1	
0,32-0,55	22	326	1,78	(0,80-3,94)	12	328	0,94	(0,36-2,42)
0,55-0,90	25	350	1,85	(0,84-4,06)	10	362	0,74	(0,28-1,98)
>0,90	15	201	1,85	(0,78-4,36)	10	204	1,06	(0,39-2,88)
TTHM via la piscine (µg/jour)								
0	54	772	1		27	792	1	
0-0,018	7	156	0,65	(0,29-1,47)	7	152	1,41	(0,58-3,45)
0,018-0,07	7	181	0,56	(0,25-1,26)	2	186	0,34	(0,08-1,48)
>0,07	9	183	0,71	(0,34-1,46)	8	181	1,33	(0,58-3,06)

Abbreviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; TTHM: total des 4 trihalomethanes

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

Tableau 69. Association entre l'exposition au TTHM au cours du 2^{ème} trimestre de grossesse via différentes voies (ingestion-bains et douches-piscine) et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

	RCIU				Prématurité			
	Oui	Non	OR ^a	(IC _{95%})	Oui	Non	OR ^b	(IC _{95%})
N	171	2923			106	2978		
TTHM dose totale (µg/jour)								
<0,351	9	232	1		7	230	1	
0,351-0,578	18	285	1,59	(0,70-3,61)	10	287	0,94	(0,34-2,61)
0,578-0,940	27	341	1,87	(0,86-4,08)	10	355	0,73	(0,26-2,03)
≥ 0,940	14	206	1,64	(0,69-3,91)	10	208	1,24	(0,45-3,47)
TTHM ingérés (µg/jour)								
0	21	416	1		20	416	1	
0-0,009	43	691	1,20	(0,70-2,07)	17	717	0,52	(0,26-1,02)
0,009-0,025	42	737	1,01	(0,58-1,75)	29	739	0,81	(0,44-1,49)
>0,025	41	678	1,09	(0,63-1,89)	27	680	0,86	(0,47-1,60)
TTHM via les douches et bains (µg/jour)								
<0,32	9	249	1		7	246	1	
0,32-0,55	18	304	1,62	(0,71-3,69)	12	306	1,2	(0,45-3,19)
0,55-0,90	29	361	2,05	(0,95-4,43)	11	375	0,77	(0,28-2,10)
>0,90	13	199	1,67	(0,69-4,03)	10	200	1,29	(0,46-3,61)
TTHM via la piscine (µg/jour)								
0	53	711	1		28	734	1	
0-0,018	9	205	0,61	(0,29-1,26)	4	206	0,55	(0,18-1,62)
0,018-0,07	5	148	0,46	(0,18-1,17)	3	150	0,53	(0,15-1,82)
>0,07	12	219	0,74	(0,38-1,41)	7	216	0,91	(0,38-2,18)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; TTHM: total des 4 trihalomethanes

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

Tableau 70. Association entre les doses internes totales des différents THMs (cumul des voies d'exposition) estimées au cours du 1^{er} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

N	RCIU				Prématurité			
	Oui 171	Non 2923	OR ^a	(IC _{95%})	Oui 106	Non 2978	OR ^b	(IC _{95%})
CLF (µg/jour)								
<0,068	14	261	1		13	264	1	
0,068-0,133	18	268	1,23	(0,60-2,54)	6	275	0,42	(0,15-1,17)
0,133-0,237	22	277	1,39	(0,69-2,80)	9	283	0,60	(0,24-1,49)
≥ 0,237	14	284	0,84	(0,39-1,82)	11	282	0,65	(0,27-1,55)
BRF (µg/jour)								
<0,057	17	273	1		8	271	1	
0,057-0,113	20	366	0,88	(0,45-1,72)	10	374	0,99	(0,37-2,66)
0,113-0,205	21	317	1,03	(0,52-2,02)	17	318	1,77	(0,71-4,42)
≥ 0,205	10	126	1,25	(0,55-2,84)	4	133	0,94	(0,26-3,38)
DBCM (µg/jour)								
<0,118	10	270	1		10	265	1	
0,118-0,188	18	272	1,69	(0,76-3,74)	8	278	0,59	(0,22-1,61)
0,188-0,267	25	272	2,37	(1,11-5,07)	10	285	0,85	(0,33-2,17)
≥0,267	15	276	1,32	(0,58-3,02)	11	276	0,82	(0,32-2,06)
BDCM (µg/jour)								
<0,083	13	275	1		10	275	1	
0,083-0,141	18	267	1,35	(0,64-2,83)	9	273	0,74	(0,28-1,94)
0,141-0,226	20	274	1,44	(0,70-2,99)	9	282	0,77	(0,29-2,01)
≥ 0,226	17	274	1,20	(0,57-2,54)	11	274	0,86	(0,35-2,16)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

Tableau 71. Association entre les doses internes totales des différents THMs (cumul des voies d'exposition) estimées au cours du 2^{ème} trimestre de grossesse et le risque de prématurité et de restriction de croissance (étude de cohorte)

N	RCIU		OR ^a	(IC _{95%})	Prématurité		OR ^b	(IC _{95%})
	Oui 171	Non 2923			Oui 106	Non 2978		
CLF (µg/jour)								
<0,068	15	261	1		9	265	1	
0,068-0,133	17	260	1,07	(0,52-2,21)	11	265	1,13	(0,45-2,89)
0,133-0,237	20	298	1,08	(0,54-2,18)	7	302	0,57	(0,20-1,62)
≥ 0,237	18	263	1,09	(0,54-2,24)	10	268	0,91	(0,35-2,37)
BRF (µg/jour)								
<0,057	15	238	1		8	237	1	
0,057-0,113	22	373	0,93	(0,47-1,84)	11	380	0,81	(0,30-2,18)
0,113-0,205	19	316	0,95	(0,47-1,93)	13	321	1,30	(0,50-3,39)
≥ 0,205	12	137	1,31	(0,59-2,93)	5	142	0,81	(0,24-2,76)
DBCM (µg/jour)								
<0,118	12	252	1		7	254	1	
0,118-0,188	16	281	1,14	(0,53-2,47)	9	281	1,12	(0,39-3,18)
0,188-0,267	23	254	1,78	(0,86-3,68)	9	266	1,09	(0,38-3,15)
≥0,267	19	295	1,23	(0,58-2,61)	12	299	1,32	(0,49-3,57)
BDCM (µg/jour)								
<0,083	12	275	1		9	275	1	
0,083-0,141	17	251	1,48	(0,69-3,18)	9	255	0,83	(0,31-2,23)
0,141-0,226	23	303	1,60	(0,78-3,32)	7	314	0,50	(0,17-1,46)
≥ 0,226	18	253	1,52	(0,71-3,24)	12	256	1,17	(0,47-2,94)

Abbréviations: RCIU : restriction de croissance intra-utérine; CLF: chloroforme; BRF: bromoforme; DBCM: dibromochlorométhane; BDCM: bromodichlorométhane

^a ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital (N=3094 mamans avec données complètes sur ces covariables)

^b ORs ajustés sur la consommation de tabac et d'alcool, l'hypertension maternelle et le diabète avant et/ou pendant la grossesse, le statut marital et la parité (N=3074 mamans avec données complètes sur ces covariables)

ANNEXE D – Caractéristiques socio-démographiques des mères participant au suivi à 2 ans de la cohorte PELAGIE

Tableau 72. Comparaison des caractéristiques socio-démographiques des mères à l'inclusion et au suivi à 2 ans de la cohorte PELAGIE

	Population inclusion N=3232		Population 2 ans N=1505		P-value
	No,	%	No,	%	
Age (années)					0,19
<25	372	11,2	141	9,4	
25-30	1323	39,8	587	39,0	
30-35	1165	35,1	553	36,8	
≥35	463	13,9	223	14,8	
Statut marital					0,02
Mariée ou en couple	3235	97,5	1479	98,5	
Mère isolée	83	2,5	22	1,5	
Niveau scolaire					0,001
Primaire/collège	625	18,9	221	14,7	
Baccalauréat	623	18,8	278	18,5	
Universitaire	2067	62,4	1001	66,7	
Parité (nb d'enfants)					0,67
0	1484	44,7	653	43,4	
1	1231	37,0	563	37,4	
≥2	608	18,3	288	19,1	
IMC avant grossesse (kg/m ²)					0,72
<18,5	244	7,4	98	6,5	
18,5-25	2465	74,7	1138	75,9	
25-30	426	12,9	192	12,8	
≥30	163	4,9	71	4,7	
Hypertension avant et/ou pendant la grossesse	178	5,5	77	5,2	0,71
Diabète avant et/ou pendant la grossesse	121	3,7	52	3,5	0,74
Consommation de tabac en début de grossesse (inclusion)					0,01
Non fumeuse	2360	71,8	1128	75,7	
Fumeuse, ≤ 10 cig/jour	468	14,2	193	12,9	
Fumeuse > 10 cig/jour	461	14,0	170	11,4	
Consommation d'alcool en début de grossesse (inclusion)					0,88
Nulle	2796	85,2	1260	84,7	
Occasionnelle	425	13,0	199	13,4	
≥ 1 boisson /jour	60	1,8	29	1,9	

ANNEXE E – Publication liée à la thèse :

Water disinfection by-products and bladder cancer: is there a European specificity? A pooled and meta-analysis of European case-control studies

Occup Environ Med, 2011 May;68(5):379-85

Water disinfection by-products and bladder cancer: is there a European specificity? A pooled and meta-analysis of European case–control studies

N Costet,¹ C M Villanueva,^{2,3,4} J J K Jaakkola,⁵ M Kogevinas,^{2,4,6,7} K P Cantor,⁸ W D King,⁹ C F Lynch,¹⁰ M J Nieuwenhuijsen,^{2,4,6} S Cordier¹

¹Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U625, University of Rennes I, IFR-140, Groupe d'Etude sur la Reproduction chez l'Homme et le Mammifère, Rennes, France

²Center for Research in Environmental Epidemiology, Barcelona, Spain

³Municipal Institute of Medical Research (Institut Municipal d'Investigació Mèdica-Hospital del Mar), Barcelona, Spain

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública, Madrid, Spain

⁵Center for Environmental and Respiratory Health Research, Institute of Health Sciences, University of Oulu, Oulu, Finland

⁶Municipal Institute of Medical Research, Barcelona, Spain

⁷National School of Public Health, Athens, Greece

⁸KP Cantor, Environmental LLC, Silver Spring, Maryland, USA

⁹Department of Community Health and Epidemiology, Queen's University, Kingston, Ontario, Canada

¹⁰Department of Epidemiology, The University of Iowa, Iowa City, Iowa, USA

Correspondence to

Nathalie Costet, GERHM INSERM U625, Batiment 13, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, F-35042 Rennes, France; nathalie.costet@univ-rennes1.fr

Accepted 2 February 2011
Published Online First
9 March 2011

ABSTRACT

Several epidemiological studies suggested an association between the risk of bladder cancer and the exposure to trihalomethanes (THMs), the main disinfection by-products (DBPs) of chlorinated water. A previous pooled analysis of case-control studies from North America and Europe estimated a summarized dose-response relation. For policy guidance of drinking water disinfection in Europe and because major differences exist in water disinfection practices and DBPs occurrence between both continents, specific risk estimates for bladder cancer in relation to DBPs exposure for European populations were needed. We conducted a pooled and a two-stage random-effect meta-analyses of three European case-control studies from France, Finland, and Spain (5467 individuals: 2381 cases and 3086 controls). Individual exposure to THMs was calculated combining information on residential history, estimates of the average total THMs (TTHM) level in tap water at the successive residences and personal water consumption. A significant odds-ratio was observed for men exposed to an average residential TTHM level $> 50 \mu\text{g/l}$ ($\text{OR}=1.47$ (1.05; 2.05)) when compared to men exposed to levels $\leq 5 \mu\text{g/l}$. The linear trend of the exposure-risk association was significant ($p=0.01$). Risks increased significantly for exposure levels above $25 \mu\text{g/l}$ and with more than 30 years of exposure to chlorinated water, but were mainly driven by the level rather than the duration of exposure. No significant association was found among women or with cumulative exposure through ingestion. There was no evidence of a differential exposure-response relation for TTHM and bladder cancer in Europe and North America. Consequently, a global exposure-risk relation based on 4351 cases and 7055 controls is now available.

Since the discovery of toxic by-products in chlorinated water in 1974, more than 600 disinfection by-products (DBPs) have been identified in treated water, 50 of them rated as 'high priority' because of their potential toxicity.¹ Studies have shown that the main by-products in chlorinated water, trihalomethanes (THMs) and haloacetic acids (HAAs), are mutagenic in bacterial assays and that some are carcinogenic to animals² or possibly carcinogenic to humans (dichloroacetic acid).³ The International Agency for Research on Cancer (IARC) working group in 1991² and the WHO in 2000⁴ nonetheless considered the existing evidence from epidemiological studies of a causal relation between the use of chlorinated drinking-water and the incidence of bladder cancer to be insufficient.

What this paper adds

- ▶ Lifetime exposure to water disinfection by-products (DBPs) is suspected to induce a number of health effects, bladder cancer being a likely target.
- ▶ Dose-response relationships tailored for the target European population are necessary for policy guidance, and until now no Europe-specific analysis of all available studies on the association between DBPs exposure and the risk of bladder cancer has been performed.
- ▶ Despite variability in water disinfection practices in Europe compared to North America, there is no evidence of a European specificity of the dose-response relationship.
- ▶ Estimates provided from this global meta-analysis based on a large population (4351 cases, 7055 controls) can therefore be used for risk/burden of disease calculations.

However, a number of important reports about bladder-cancer risk have been published since then. In 2004, an international pooled analysis⁵ examined long-term exposure to chlorination by-products and the risk of bladder cancer in six case–control studies from the USA, Canada and Europe. Statistically significant excess risks were found among men. Later, a large European case–control study conducted in Spain⁶ confirmed that long-term THM exposure was associated with increased cancer risk in men.

In 2007, the European Commission funded the Health Impacts of Long-Term Exposure to Disinfection By-Products in Drinking-Water (HiWate) project⁷ to investigate potential human-health risks (for cancer and adverse reproductive outcomes) associated with long-term exposure to low levels of disinfectants and DBPs in drinking-water. The project analysed existing studies/databases and newly collected information in Europe to conduct risk/benefit analyses based on quantitative assessments of the risks associated both with microbial contamination of drinking-water and DBPs and with other chemical risks. As part of this project, this study examined the association between DBP exposure in Europe and the risk of bladder cancer, and sought to assess the specificity of the dose–response pattern in Europe. We supposed the possibility of a European

Review

specificity because differences between Europe and North America in raw-water quality and historical water-disinfection practices^{8–11} might produce different mixtures of DBPs. Moreover, a closer analysis of the data from the previous pooled analysis⁵ revealed that the results were mainly driven by North American studies and supported the need for a synthetic analysis of all available European studies, including those published since 2004.

METHODS

Data from three European case–control studies, conducted in France, Finland and Spain, were pooled. The French and Finnish studies were part of the previous international pooled analysis⁵ which also included two studies from the USA, one from Canada and one from Italy. Our study does not include the Italian data because of the very low levels of THMs in Italian drinking-water. The Spanish study⁶ was published after the first international pooled analysis. The pooled European database finally included 5467 subjects (2381 cases and 3086 controls) (table 1).

Study populations and data collection

The Finnish case–control study¹² included 732 bladder cancer cases and 914 controls. Cases were identified from the Finnish Cancer Registry for the years 1991–1992 and were histologically confirmed. Information on bladder-cancer subtypes was not available. Controls were randomly selected from the national population registry and frequency-matched by age and sex. A

questionnaire was sent to all subjects (or to their close relatives, for those who had died) to collect information about their residential history, past drinking-water sources and confounding factors (smoking and occupation).

The French study was a hospital-based case–control study of bladder cancer that took place between 1985 and 1987, and included 765 cases and 765 controls.^{13 14} Cases were histologically confirmed, with transitional cell carcinoma the most frequent (95%) subtype. Participants were recruited in five geographic areas. Each case had a control admitted to the same hospital who was matched for sex, age and area of residence. All subjects (or their immediate families) were interviewed to collect information about demographic characteristics, smoking habits, occupational and residential history, and fluid intake from the age of 18.

The Spanish hospital-based case–control study of 1226 cases and 1225 controls⁶ recruited subjects from 1998 to 2001, in 18 participating hospitals from five Spanish areas. Cases were patients first diagnosed as having a histologically confirmed bladder cancer (91% transitional cell carcinoma). Controls were matched to the cases for age, sex and geographic area of residence. Individual interviews provided information on social and demographic characteristics, residential history, smoking habits, coffee consumption, occupational exposures, and frequency and duration of showers, baths and swimming pool attendance.

The age range considered in the pooled analysis was 30–80 years at diagnosis.

Table 1 Characteristics of cases and controls in the pooled European database

	Cases N (column %)	Controls N (column %)	OR* (95% CI)
Study (period of inclusion, country)			
Cordier (1985–1987, France)	567 (23.8)	666 (21.6)	
Koivusalo (1991–1992, Finland)	759 (31.9)	1292 (41.9)	
Villanueva (1998–2001, Spain)	1055 (44.3)	1128 (36.6)	
Sex			
Men	2001 (84.0)	2420 (78.4)	
Women	380 (16.0)	666 (21.6)	
Age (years)—mean (SD)	65.5 (9.8)	64.8 (9.8)	
Educational level†			
≤Primary school	957 (40.2)	1123 (36.4)	1
Some secondary	605 (25.4)	760 (24.7)	1.26 (1.04 to 1.52)
Secondary completed	273 (11.5)	350 (11.4)	1.28 (1.04 to 1.57)
>Secondary	239 (10.1)	341 (11.0)	1.10 (0.89 to 1.37)
Other‡	304 (12.8)	508 (16.5)	0.99 (0.80 to 1.22)
High-risk occupation†			
Never	1980 (83.2)	2684 (87.0)	1
Ever	401 (16.8)	402 (13.0)	1.21 (1.03 to 1.41)
Smoking†			
Never	452 (19.1)	1169 (38.3)	1
Former	892 (37.8)	1073 (35.1)	2.31 (1.96 to 2.71)
Current	1018 (43.1)	814 (26.6)	3.91 (3.32 to 4.60)
Total fluid intake (l/day)†			
≤2	1110 (54.0)	1430 (54.4)	1
>2	945 (46.0)	1199 (45.6)	1.12 (0.99 to 1.27)
Tap-water intake (l/day)†			
≤1	1232 (59.8)	1631 (61.8)	1
>1	827 (40.2)	1008 (38.2)	1.01 (0.89 to 1.15)
Coffee intake (cups/day)†			
≤3	1953 (86.9)	2525 (87.9)	1
>3	295 (13.1)	346 (12.1)	1.17 (0.99 to 1.39)

*OR adjusted for centre, age and sex (logistic regression).

†Numbers do not add up to the total because of missing values.

‡Other educational level that could not be classified into academic grades.

THM environmental data and exposure indices

The environmental exposure to THM assessed in these studies was the annual average total THM (TTHM) level ($\mu\text{g/l}$) in tap water during the residential history of the subjects, calculated as the year-by-year sum of the mean annual TTHM level at each residence, divided by the number of years with no missing data. The original studies varied in how they estimated the TTHM concentrations in tap water.

The Finnish study,¹² collected historical data about water sources, quality and treatment from administrative registers and municipal waterworks. The level of mutagenicity was evaluated by the Ames test, and TTHM levels were estimated by a prediction equation including information about mutagenicity, the quality of raw water and treatment practices. TTHM levels were then back-calculated by applying the linear relation between the TTHM level and mutagenicity.

The French study^{13 14} retrospectively collected information from municipalities and water companies about water sources (surface vs ground water) and treatments (prechlorination or ozonation, pH adjustment, postchlorination) during the exposure window. A predictive model assigned TTHM levels to the different combinations of sources and treatments. The number of years of exposure to ozone treatment was also calculated.

In the Spanish study,⁶ measurements of chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane and bromoform were performed in 105 drinking-water samples from the study areas. Current and historical levels of THMs, water sources and the year that chlorination began in each municipality were collected from water companies and authorities. It was assumed that THM levels remained unchanged for a constant water source, and the average current levels of THMs were extrapolated back to 1920. In the event of water source changes, the proportion of surface water was used to weight this average.

A common 40-year exposure window (from 45 years to 5 years before diagnosis) was defined. As the Spanish study originally used a different exposure window (from age 15 to 5 years before interview), individual THM exposure was re-estimated for its subjects. The exposure window for the French and Finnish data had previously been harmonised.⁵

The French and Spanish samples also had data available about the duration of exposure to a surface chlorinated tap water (expressed in years). We used this variable as a second environmental indicator of exposure.

All three original studies collected the mean individual daily consumption of tap water, total fluids (including tap water and other beverages) and coffee, expressed or converted into litres/day. Combining the environmental exposure information and the individual tap water intake, we derived an indicator of the cumulative exposure (mg) to TTHM via ingestion over the 40-year exposure window: the product of the sum of the annual average TTHM concentrations ($\mu\text{g/l}$) in the exposure window multiplied by the average daily tap water intake ($\text{l/day} \times 365$).

Statistical methods

The modelling of the relation between bladder cancer and exposure to TTHM considered only subjects with THM information available for at least 70% of the 40-year exposure window (3753 individuals).

We first conducted a pooled analysis to assess the exposure–response relation between TTHM exposure and bladder cancer using categorised exposure in unconditional logistic regressions and a natural spline function (3 df) in Generalised Additive Models (GAM). The individual risk factors and other common

covariates used in the original studies that could be considered as potential confounders were extracted and coded according to common schemes. Smoking status (never, former or current smoker) was defined at the time of diagnosis (cases) or inclusion (controls). Occupation was defined as a binary variable: ‘ever or never employed in a predefined high-risk occupation.’ The listed high-risk occupations were initially defined from a review of the evidence on occupational bladder cancer^{15 16} and used in a pooled analysis of European case–control studies of bladder cancer.¹⁷ A cut-off point of 1 l/day was chosen to dichotomise daily tap-water consumption in the models, and 2 l/day for total fluid consumption. Heavy consumers of coffee were defined as subjects who drank more than 3 cups of coffee/day.

The analyses adjusted the estimated effects of TTHM exposure (odds-ratios) for centre (representing geographic areas where subjects were selected: one for Finland, five for France and six for Spain), sex (in models including both sexes), age (continuous), smoking status, high-risk occupation, daily coffee consumption and educational level. Models including the average TTHM level were further adjusted for total fluid intake.

Some values were missing for the main covariates used in the models (smoking status, educational level, high-risk occupation and coffee consumption). Because restricting the analyses to complete observations substantially reduced the number of individuals used (17% of the subjects excluded) and affected the estimated ORs, we considered missing values in covariates as a category, so that all the subjects with known exposure were included in the analyses.

We then used a two-step meta-analysis¹⁸ to explore the heterogeneity of the pooled database and to take into account specific covariates of the original data. Using the same selection criteria as in the pooled analysis for age range, window of exposure and exposure cut-offs, we separately reanalysed the study-specific samples and selected the model that fitted each study best. Thus, the French model included the duration of exposure to ozonated water. No additional covariate was available for the Finnish model. In the Spanish model, we adjusted for some significant confounders from the original analysis (urbanicity of the longest residential area before age 18, quality of the interview, average daily duration of bath and shower and attendance of swimming pools (ever/never)). The study-specific results were combined in a meta-analysis.¹⁹ with Cochran tests to assess the heterogeneity of the individual ORs. Combined ORs (DerSimonian and Laird estimator)²⁰ were calculated under fixed or mixed effects,²¹ as necessary. This meta-analysis examined average residential TTHM exposure among men only.

Finally, a meta-regression^{22–24} of the complete set of case–control studies, including the three American and Canadian studies from the original pooled analysis,⁵ was conducted to compare the results in the European and the North American studies. We included the geographical origin of each study (Europe vs North America) as a fixed effect. The statistical significance of this variable was tested to reach a conclusion about whether the relation observed between the level of environmental exposure to TTHM and the risk of bladder cancer was specific to Europe.

RESULTS

Table 1 summarises the general characteristics of the cases and controls.

High-risk occupation and educational level (for secondary vs primary school) were significantly associated with the risk of bladder cancer (table 1). Five per cent of the subjects drank no tap water during the exposure window, and the overall mean tap

Table 2 Relation between exposure to disinfection by-products (average residential total trihalomethane level) and the risk of bladder cancer in the pooled European database (adjusted OR and 95% CI)

	Men		Women	
	Cases/controls	OR (95% CI)	Cases/controls	OR (95% CI)
Total trihalomethane level ($\mu\text{g/l}$)*				
0–5	480/730	1	112/220	1
>5	838/938	1.24 (1.01 to 1.71)	158/275	0.91 (0.61 to 1.35)
0–5	480/730	1	112/220	1
>5–25	223/271	1.10 (0.85 to 1.42)	44/76	1.00 (0.58 to 1.71)
>25–50	307/301	1.35 (1.04 to 1.75)	48/66	1.29 (0.76 to 2.18)
>50	308/366	1.32 (1.01 to 1.71)	66/133	0.70 (0.43 to 1.14)
p Trend (linear)	0.02		0.27	
Duration of exposure to chlorinated surface water (years)†				
0	271/338	1	43/53	1
>0–20	158/166	1.24 (0.78 to 1.98)	19/27	0.67 (0.19 to 2.40)
>20–30	272/307	1.39 (0.87 to 2.21)	41/52	0.77 (0.23 to 2.64)
>30	145/135	1.57 (1.00 to 2.48)	23/15	1.74 (0.50 to 6.06)
p Trend (linear)	0.02		0.76	
Cumulative ingested total trihalomethanes (mg)‡				
0	300/484	1	84/179	1
>0–100	236/289	0.98 (0.73 to 1.33)	39/54	0.88 (0.44 to 1.57)
>100–500	333/356	1.16 (0.88 to 1.52)	62/110	0.80 (0.48 to 1.33)
>500–1000	177/188	1.14 (0.84 to 1.56)	44/49	1.41 (0.80 to 2.49)
>1000	106/115	1.19 (0.79 to 1.79)	19/55	0.39 (0.19 to 0.83)
p Trend (linear)	0.18		0.07	

*OR adjusted for: centre, age (continuous), smoking status (never/former/current), high-risk occupation (ever/never), daily coffee consumption (≤ 3 cups/ > 3 cups), education (five levels), total fluid consumption (binary, threshold=1 L/day); N=3751 individuals with known total trihalomethane exposure for at least 70% of the 40-year exposure window and known smoking status for women.

†OR adjusted for: centre, age (continuous), smoking status (never/former/current), high-risk occupation (ever/never), daily coffee consumption (≤ 3 cups/ > 3 cups), education (five levels); N=2065 individuals from France and Spain, with known type of source for drinking-water for at least 70% of the 40-year exposure window and known smoking status and educational level for women.

‡OR adjusted for: centre, age (continuous), smoking status (never/former/current), high-risk occupation (ever/never), daily coffee consumption (≤ 3 cups/ > 3 cups), education (five levels); N=3279 individuals from France and Spain, with known trihalomethane exposure for at least 70% of the 40-year exposure window and known smoking status for women.

water consumption was 0.96 l/day (median=0.81). Risk estimates for bladder cancer associated with total fluid intake and coffee consumption were on the borderline of statistical significance. The statistically significant association between high coffee intake and excess risk of bladder cancer was partly due to the strong link between smoking status and coffee consumption ($p<0.0001$): smokers were over-represented among heavy coffee consumers (data not shown).

The distribution of the pooled average TTHM concentrations in residential tap water throughout the residential history was highly skewed. About one-quarter of the subjects were not exposed to THMs during the exposure window. Among those who were exposed, the median TTHM concentration was 30 $\mu\text{g/l}$ (max=145 $\mu\text{g/l}$).

Among men, we observed a significant increasing trend in bladder-cancer risk with increasing TTHM exposure, but no consistent association was present in women (table 2). Men exposed to average TTHM concentrations greater than 5 $\mu\text{g/l}$ had a higher risk than men exposed to less than 5 $\mu\text{g/l}$. Statistically significant ORs up to 1.35 were observed for men exposed to concentrations above 25 $\mu\text{g/l}$. The generalised additive modelling confirmed that the risk of bladder cancer increased with exposure levels. Adjustment for the total fluid or tap-water consumption had little influence on the sex-specific effect estimates (data not shown).

The analysis of the effect of duration of exposure to chlorinated surface water was limited to the 2065 subjects from France and Spain, for whom information about the source of water at their residence was available for at least 70% of the 40-year exposure window. More than one-quarter were never

exposed to chlorinated surface water. A statistically significant positive trend between the duration of exposure and the risk of bladder cancer was observed among men, but not women (table 2). Additional adjustment for the mean residential TTHM level strongly modified the effect of duration, because of the strong association between duration and level of exposure (Spearman correlation=0.84 ($p<0.0001$)). The effect of duration disappeared when it was introduced into the model simultaneously with average residential TTHM level. This result suggests that the observed risk is driven by the average level.

Thirty-two per cent of the subjects did not ingest any THM across the exposure window (27.4% among cases, 35.3% among controls). The risk of bladder was not related to cumulative exposure to ingested TTHM (table 2).

In the meta-analysis, as in the three original analyses, results for women were both inconsistent and not significant. The excess risk for exposed compared with non-exposed men varied between the original studies, ranging from 1.16 (Finland) to 1.79 (France) (table 3). The test for heterogeneity of the ORs between studies was not significant ($p=0.45$). The combined (random effect) excess risk was statistically significant: 1.27 (CI=1.03 to 1.58). ORs were lowest in Finland for all levels of exposure. When considering detailed exposure categories, the tests for heterogeneity of the ORs were not significant in any category. The combined ORs (random effects) indicated that the risk of bladder cancer increased with level of exposure and that it was statistically significant above 50 $\mu\text{g/l}$. The linear trend was significant in all three individual studies, but at the 10% level only. The meta-analysis of these trends indicated a more significant linear trend ($p=0.01$). The ORs obtained from the

Table 3 Relation between average residential total trihalomethane level and bladder cancer: OR estimates in individual studies and in the European pooled and meta-analyses (men with known trihalomethane exposure for at least 70% of the 40-year exposure window)

	France*	Finland*	Spain*	Meta-analysis†	Pooled analysis
Total trihalomethane level (µg/l)					
0–5	1	1	1	1	1
>5	1.79 (0.89 to 3.60)	1.16 (0.89 to 1.52)	1.41 (0.93 to 2.15)	1.27 (1.03 to 1.58)	1.24 (1.01 to 1.52)
>0–5	1	1	1	1	1
>5–25	1.88 (0.72 to 4.93)	1.16 (0.78 to 1.74)	1.29 (0.84 to 1.98)	1.27 (0.95 to 1.68)	1.10 (0.85 to 1.42)
>25–50	1.65 (0.75 to 3.63)	0.97 (0.63 to 1.48)	2.14 (1.27 to 3.63)	1.46 (0.86 to 2.46)	1.35 (1.04 to 1.75)
>50	2.10 (0.85 to 5.14)	1.27 (0.92 to 1.76)	1.90 (0.95 to 3.82)	1.47 (1.05 to 2.05)	1.32 (1.01 to 1.71)
p Trend (linear)	0.07	0.09	0.09	0.01	0.02

*OR adjusted for age (continuous), smoking status (never/former/current), high-risk occupation (ever/never), daily coffee consumption (≤ 3 cups/ >3 cups), education (five levels), total fluid consumption (binary, threshold=1 L/day).

► French OR additionally adjusted for hospital and duration of exposure to ozonated surface water (three levels); N=522 men, with known educational level;

► Finnish OR not additionally adjusted; N=1191 men;

► Spanish OR additionally adjusted for geographical area, urbanicity of the longest residence until age 18, quality of interview, swimming in a swimming pool (ever/never) and average duration of showers/bathes (binary, threshold=10 min/day); N=1270 men with known smoking status.

†Random-effect combined estimates.

meta-analysis were systematically higher than those obtained from the pooled analysis. The Finnish portion of the sample tends to reduce the combined ORs, and the Spanish portion tends to draw the results towards statistical significance.

The meta-regression of the complete set of available studies (including North American studies), indicated no significant 'European' effect of exposure to an average TTHM level and the risk of bladder cancer in men: when comparing unexposed (≤ 5 µg/l) to exposed (>5 µg/l) men, the effect size was higher in North American than in European studies, but the difference was not statistically significant (95% CI –0.22 to 0.31). A total summary estimate across all studies was calculated (table 4).

DISCUSSION

The pooled and meta-analyses of the European case-control studies provide evidence that long-term exposure to THMs increases the risk of bladder cancer among men, but not among women. The objective of our study was to characterise the relation between long-term exposure to drinking-water DBPs and the risk of bladder cancer in Europe by combining all the currently available data. The different disinfection strategies and regulations applied in Europe compared with North America justified such an analysis, as did the need for risk estimates for

health-impact assessments in Europe. Historically, and still in recent years, the typical North American plant used conventional treatment (no ozone or granular activated carbon (GAC)) with chlorine as the primary disinfectant, often applied to the raw water before the removal of natural organic matter.^{8–10} In comparison, in some European countries, such as France or The Netherlands, ozonation and/or GAC have been used for many decades.¹¹ The difference in quantity and mixture of DBPs generated may have different effects on health outcomes such as cancer. Moreover, a preliminary reanalysis of the international pooled analysis⁵ split into its European and North American parts indicated that the overall trend was mainly driven by the North American studies: the increasing trend was linear within the American part, but not within the European studies (table 4). The present European meta-analysis, however, which includes the Spanish data, and the meta-regression both indicated that there are no significant differences in trends or levels of risks between European and American studies (table 4). A global estimation of the relation between exposure and risk was thus justified.

Because duration was highly associated with the levels of exposure, an independent investigation of the relation between duration and the risk of bladder cancer was not possible. The average residential TTHM level or duration of exposure to

Table 4 Pooled and meta-analyses for the relation between average residential total trihalomethane level and risk of bladder cancer in men: European versus North American studies

Total trihalomethane level (µg/l)	Original international pooled analysis* 5			New international meta-analysis†		
	Pooled analysis of European studies*	Pooled analysis of North American studies*	International original pooled analysis*	Meta-analysis of European studies‡	Meta-analysis of North American studies§	Total international meta-analysis¶
0–5	1	1	1	1	1	1
>5	1.16 (0.93 to 1.44)	1.35 (1.16 to 1.58)	1.30 (1.14 to 1.47)	1.27 (1.03 to 1.58)	1.34 (1.14 to 1.56)	1.31 (1.16 to 1.49)
>0–5	1	1	1	1	1	1
>5–25	1.21 (0.85 to 1.73)	1.27 (1.04 to 1.54)	1.24 (1.05 to 1.47)	1.27 (0.95 to 1.68)	1.24 (1.00 to 1.53)	1.25 (1.06 to 1.47)
>25–50	0.98 (0.70 to 1.37)	1.36 (1.11 to 1.66)	1.24 (1.04 to 1.47)	1.46 (0.86 to 2.46)	1.33 (1.07 to 1.67)	1.35 (1.09 to 1.66)
>50	1.24 (0.95 to 1.62)	1.50 (1.19 to 1.90)	1.42 (1.19 to 1.69)	1.47 (1.05 to 2.05)	1.59 (1.24 to 2.03)	1.51 (1.26 to 1.82)
p Trend (linear)	0.07	<0.001	<0.001	0.01	<0.001	<0.001

*International original pooled analysis: two studies from USA,^{25 26} one from Canada,²⁷ one from France,^{13 14} one from Finland,¹² one from Italy (Porru, unpublished data, 2003). This analysis was divided into European and North American subsamples. OR were adjusted for study, age (continuous), smoking status (never/former/current), high-risk occupation (ever/never), daily coffee consumption (≤ 3 cups/ >3 cups), education (five levels) and total fluid consumption (binary, threshold=1 L/day).

†Random-effects estimates. Individual OR adjusted for the same covariates as in pooled analyses for the Finnish study; French OR additionally adjusted for hospital and duration of exposure to ozonated surface water (three levels); Spanish OR additionally adjusted for geographical area, urbanicity of the longest residence until age 18, quality of interview, swimming in a swimming-pool (ever/never) and average duration of showers/bathes (binary, threshold=10 min/day).

‡European meta-analysis: one study from France,^{13 14} one from Finland¹² and one from Spain.⁶

§North American meta-analysis: two studies from USA^{25 26} and one from Canada.²⁷

¶Total international meta-analysis: two studies from USA,^{25 26} one from Canada,²⁷ one from France,^{13 14} one from Finland¹² and one from Spain.⁶

chlorinated surface water can be considered as indicators of global exposure, regardless of the route (ingestion, dermal absorption or inhalation). We found no statistically significant association between cumulative TTHM intake and the risk of bladder cancer. One limitation of this indicator is that the daily intake of tap water was considered as constant over the exposure window for each individual, so that no correspondence between each annual level of TTHM and the individual tap-water intake was possible. Data available from case-control studies did not allow us to assess variability in drinking-water consumption over a lifetime and its possible influence on risk estimates. In a previous investigation of the association between fluid consumption and bladder cancer using longitudinal data collected in the framework of the US Health Professionals Follow-up Study,²⁸ they were able to evaluate the impact of temporal variability in individual drinking-water consumption and found a minimal impact, in the order of 10%, on risk estimates. Results for the effects of residential TTHM exposure were not sensitive to adjustment for daily intake of tap water or total fluid. Models testing the effect of daily tap-water intake alone produced no significant results. The other routes of exposure (dermal and via inhalation) could not be investigated at the European level because only the Spanish study had collected the necessary information. Significant increasing risks of bladder cancer among men with bathing, showering and swimming-pool attendance were found.⁶

We used two statistical strategies in this study: a pooled analysis and a meta-analysis. Pooling data from different studies presents the advantage of increasing statistical power, but it has disadvantages when the heterogeneity between datasets is large. The sources of heterogeneity may include design-specific covariates or the distribution of exposure levels and confounders in the original studies. Some study-specific covariates significantly influenced the original results of the exposure variables (eg, duration of exposure to ozonated water in the French study) but could not be included in the pooled analysis because they were not available for all the studies. Adjusting for the centre in the pooled analysis was insufficient to control for their effect. The two-stage meta-analysis reanalysed the original data with common constraints (exposure-window definition, exposure cut-offs and age-range) and allowed individual adjustment for key covariates. The ORs estimated with study-specific covariates were higher, and consequently the ORs estimated from the meta-analysis were higher than those estimated from the pooled analysis. In the original methodological article,¹⁸ simulation studies showed that this method of pooling data from different studies was more efficient than the more usual joined fixed-effect analysis (simple pooled analysis), in terms of reduction of bias and SE estimations. Nevertheless, this type of analysis did not address the problem of heterogeneity in exposure levels and specifically the heterogeneous distribution of the average TTHM level in the pooled datasets. For example, because no Spanish subjects were exposed to less than 1 µg/l, we had to redefine the reference category of mean TTHM exposure as subjects exposed to less than 5 µg/l. When each individual study is not represented in all the exposure levels (and especially in the reference category), the comparison of categories of exposure may mainly compare subjects from different studies with various confounding factors in addition to subjects exposed to different levels of TTHM.

The three studies included in the pooled analysis used TTHM levels as a proxy for the global DBP level in tap water. The water-quality regulations applied in the different countries determine the information available for epidemiological studies

about DBPs in tap water. Only a fraction of DBPs are regulated, and this regulation is recent, especially given that the effects are expected to occur from 10 to 40 years after exposure. The distribution of the four individual compounds in the global TTHM level was not available in either the French or Finnish study, partly because of the period during which the studies were conducted (1984–1987 for France, 1991–1992 for Finland). Only the Spanish study (1998–2001) collected information about each DBP constituting the total THM.

Recent research on DBPs suggests that some specific compounds, including the brominated compounds and the haloacetic acids (HAAs), are associated with the risk of cancer, and thus indicates that global TTHM may not be the best indicator of the mutagenicity of chlorinated tap water.²⁹ The levels of these different compounds are heterogeneous in Europe, and the same level of TTHM may have a different underlying mixture of DBPs. In Finland, an occurrence study of DBPs in a representative sample of waterworks³⁰ indicated that trichloroacetic acid (TCAA), dichloroacetic acid (DCAA) and chloroform were dominant, that total haloacetic acids (HAA6) concentrations exceeded TTHM concentrations and that chloroform accounted for 80% of the TTHM. In Spain, only 28% of the TTHM were chloroform in the data used for the case-control study. In France, the use of ozonation produced other specific DBPs, and the chloroform levels varied from 20 to 70% according to region. The variability of the composition of tap water in terms of these more specific compounds within a single country is also quite high, depending on local treatment processes and raw-water sources. Moreover, the spatial and temporal variability within the same distribution system can be very high.^{31–33}

CONCLUSION

This analysis pooled data from the existing European case-control studies about the relation between exposure to THMs and the risk of bladder cancer, including the latest study from Spain. We showed a significantly increased risk of bladder cancer in men who were exposed to TTHM levels above 25 µg/l during their lifetime. Meta-analysis results allowed for the evaluation of more accurate models for each original study. The comparison of the effect of exposure observed in the European and North American studies showed no significant differences and thus suggests that there is no need to integrate any European specificity into risk-assessment analyses in Europe related to THM exposure and bladder cancer. The exposure-risk relation estimated from the global meta-analysis including a large population (4351 cases, 7055 controls) from North America and Europe can therefore be used in future risk/burden of disease calculations.

Acknowledgements We are grateful to S Krasner, who provided detailed information for comparison of European and North American Water drinking-water disinfection practices and DBPs concentrations. Thanks to JA Cahn, who helped to edit the text.

Funding European Commission—the work was funded as part of the Health Impacts of Long-Term Exposure to Disinfection By-Products in Drinking Water in Europe (HIWATE) project, which is a three and a half year Specific Targeted Research Project, funded under the EU Sixth Framework Programme for Research and Technological Development by the Research Directorate-Biotechnology, Agriculture and Food Research Unit (Contract no Food-CT-2006-036224).

Competing interests None.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

REFERENCES

1. Weinberg HS. *The Occurrence of Disinfection By-Products (DBPs) of Health Concern in Drinking Water: Results of a Nationwide DBP Occurrence Study*. EPA/600/R-02/068. Washington, DC: US EPA, 2002.

2. **Anon.** *Chlorinated Drinking Water; Chlorination By-Products. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Vol 52.* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1991.
3. **Anon.** *Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Vol 84.* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2004.
4. **International Programme on chemical safety (IPCS).** *Disinfectant and Disinfectant By-Products. Environmental Health Criteria 216.* Geneva: United Nations Environment Programme (UNEP); International Labour Organization (ILO); World Health Organization (WHO), 2000.
5. **Villanueva CM,** Cantor KP, Cordier S, *et al.* Disinfection byproducts and bladder cancer: a pooled analysis. *Epidemiology* 2004;**15**:357–67.
6. **Villanueva CM,** Cantor KP, Grimalt JO, *et al.* Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering and swimming in pools. *Am J Epidemiol* 2007;**165**:148–56.
7. **Nieuwenhuijsen MJ,** Smith R, Golinopoulos S, *et al.* Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE. *J Water Health* 2009;**7**:185–207.
8. **Anon.** *Twenty-Five Years of the Safe Drinking Water Act: History and Trends, EPA/816/R-99/007.* Washington, DC: US EPA, 1999.
9. **Anon.** *The History of Drinking Water Treatment, EPA/816/F-00/006.* Washington, DC: US EPA, 2000.
10. **Amy GL,** Graziano N, Craun G, *et al.* *Improved Exposure Assessment on Existing Cancer Studies.* Denver, Colorado: AWWA Research Foundation and American Water Works Association, 2006. AwwaRF.
11. **Le Pauloué J,** Langlais B. State of the art of ozonation in France. *Ozone: Sci Eng* 1999;**21**:153–62.
12. **Koivusalo M,** Hakulinen T, Vartiainen T, *et al.* Drinking water mutagenicity and urinary tract cancers: a population-based case–control study in Finland. *Am J Epidemiol* 1998;**148**:704–12.
13. **Cordier S,** Clavel J, Limasset JC, *et al.* Occupational risks of bladder cancer in France: a multicentre case–control study. *Int J Epidemiol* 1993;**22**:403–11.
14. **Chevrier C,** Junod B, Cordier S. Does ozonation of drinking water reduce the risk of bladder cancer? *Epidemiology* 2004;**15**:605–14.
15. **Anon.** *International Standard Classification of Occupations.* Geneva: International Labour Organization, 1968.
16. **Silverman DT,** Morrison AS, Devesa SS. Bladder cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, eds. *Cancer Epidemiology and Prevention.* 2nd edn. New York: Oxford University Press, 1996:1156–79.
17. **Kogevinas M,** Mannetje A, Cordier S, *et al.* Occupation and bladder cancer among men in Western Europe. *Cancer Causes Control* 2003;**14**:907–14.
18. **Stukel TA,** Demidenko E, Dykes J, *et al.* Two-stage methods for the analysis of pooled data. *Stat Med* 2001;**20**:2115–30.
19. **Normand SLT.** Tutorial in biostatistics. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining and reporting. *Stat Med* 1999;**18**:321–59.
20. **DerSimonian R,** Laird NM. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986;**7**:177–88.
21. **Sheu CF,** Suzuki S. Meta-analysis using linear mixed models. *Behav Res Methods Instrum Comput* 2001;**33**:102–7.
22. **Greenland S.** Quantitative methods in the review of epidemiologic literature. *Epidemiol Rev* 1987;**9**:1–30.
23. **Greenland S.** Invited commentary: a critical look at some popular metaanalytic methods. *Am J Epidemiol* 1994;**140**:290–6.
24. **Van Houwelingen HC,** Arends LR, Stijnen T. Tutorial in biostatistics. Advanced methods in meta-analysis: multivariate approach and meta-regression. *Stat Med* 2002;**21**:589–624.
25. **Cantor KP,** Lynch CF, Hildesheim ME, *et al.* Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology* 1998;**9**:21–8.
26. **Lynch CF,** Woolson RF, O'Gorman T, *et al.* Chlorinated drinking water and bladder cancer: effect of misclassification on risk estimates. *Arch Environ Health* 1989;**44**:252–9.
27. **King WD,** Marrett LD. Case–control study of bladder cancer and chlorination by-products in treated water (Ontario, Canada). *Cancer Causes Control* 1996;**7**:596–604.
28. **Michaud DS,** Spiegelman D, Clinton SK, *et al.* Fluid intake and the risk of bladder cancer in men. *N Engl J Med* 1999;**340**:1390–7.
29. **Richardson SD,** Plewa MJ, Wagner ED, *et al.* Occurrence, genotoxicity and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and road-map for research. *Mutat Res* 2007;**636**:178–242.
30. **Nissinen TK,** Miettinen IT, Martikainen PJ, *et al.* Disinfection by-products in Finnish drinking waters. *Chemosphere* 2002;**48**:9–20.
31. **Rodriguez MJ,** Serodes JB. Spatial and temporal evolution of trihalomethanes in three water distribution systems. *Water Res* 2001;**35**:1572–86.
32. **Sadiq R,** Rodriguez MJ. Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review. *Sci Total Environ* 2004;**321**:21–46.
33. **Villanueva CM,** Gagniere B, Monfort C, *et al.* Sources of variability in levels and exposure to trihalomethanes. *Environ Res* 2007;**103**:211–20.

ANNEXE F – Publication liée à la thèse :

Environmental and Urinary Markers of Prenatal Exposure to Drinking Water Disinfection By-Products, Fetal Growth, and Duration of Gestation in the PELAGIE Birth Cohort (Brittany, France, 2002–2006)

Am J Epidemiol, 2012 Feb 15;175(4):263-75



Original Contribution

Environmental and Urinary Markers of Prenatal Exposure to Drinking Water Disinfection By-Products, Fetal Growth, and Duration of Gestation in the PELAGIE Birth Cohort (Brittany, France, 2002–2006)

Nathalie Costet*, Ronan Garlantézec, Christine Monfort, Florence Rouget, Bertrand Gagnière, Cécile Chevrier, and Sylvaine Cordier

* Correspondence to: Nathalie Costet, INSERM U1085, Institut de Recherches sur la Santé, l'Environnement et le Travail, University of Rennes 1, Institut Fédératif de Recherches 140, Avenue du Général Leclerc, F-35042 Rennes, France (e-mail: nathalie.costet@univ-rennes1.fr).

Initially submitted March 2, 2011; accepted for publication August 30, 2011.

Although prenatal exposure to water disinfection by-products does not appear to affect the duration of gestation, its impact on fetal growth remains an open question. The authors studied the associations between prenatal exposure to disinfection by-products and fetal growth restriction (FGR) and preterm birth in the PELAGIE cohort, a French birth cohort comprising 3,421 pregnant women recruited between 2002 and 2006. Exposure was assessed by estimating levels of trihalomethanes (THMs) in tap water during pregnancy and maternal water use and by measuring maternal urinary levels of trichloroacetic acid (TCAA) during early pregnancy in a nested case-control design that compared 174 FGR cases, 114 preterm births, and 399 controls. Higher uptake of THMs (especially brominated THMs) was associated with a higher risk of FGR. Women with TCAA detected in their urine (>0.01 mg/L) had a higher risk of FGR than those with TCAA levels below the detection limit (adjusted odds ratio = 1.8, 95% confidence interval: 0.9, 3.7) and had an odds ratio for preterm birth below 1 (adjusted odds ratio = 0.8, 95% confidence interval: 0.3, 2.6). Results from this prospective study, the first to use a biomarker of disinfection by-product exposure, suggest that prenatal exposure affects fetal growth, but the causal agent or agents remain to be identified.

biological markers; fetal development; maternal exposure; pregnancy; premature birth; trichloroacetic acid; trihalomethanes; water purification

Abbreviations: BDCM, bromodichloromethane; CI, confidence interval; DBCM, dibromochloromethane; DBP(s), disinfection by-products(s); FGR, fetal growth restriction; OR, odds ratio; PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance; SISE-Eaux, Système d'Information en Santé-Environnement sur les Eaux; TCAA, trichloroacetic acid; THM(s), trihalomethane(s).

Editor's note: An invited commentary on this article appears on page 000.

Adequate control of bacterial contamination of drinking water by disinfectants, mainly chlorinated disinfectants, inevitably leads to production of disinfection by-products (DBPs). Several hundred of these by-products have been identified, the most frequent being trihalomethanes (THMs) and haloacetic acids (1–3). Chemical types and levels of DBPs depend on the characteristics of the raw water and on the disinfection

treatment process (3–5). The presence of these chemicals in drinking water has shifted health concerns from bacteriologic risks to chemical risks, since several identified DBPs are recognized carcinogens or fetotoxic compounds in animals (6–9).

Since 1982, more than 20 reports (10–31) have investigated the possible impact of prenatal exposure to DBPs on the duration of gestation and fetal growth. These investigations have differed in the sophistication of their methods for assessing DBP exposure, which have ranged from crude classifications of water sources to better measures such as ad hoc

Table 1. Characteristics of Mothers and Children in the PELAGIE Cohort, Controls, and Cases of Fetal Growth Restriction and Preterm Birth, Brittany, France, 2002–2006^a

	Cohort Members (<i>n</i> = 3,223)				Controls (<i>n</i> = 399)				Fetal Growth Restriction Cases (<i>n</i> = 174)				Preterm Birth Cases (<i>n</i> = 114)			
	No.	%	Mean (SD)	Range	No.	%	Mean (SD)	Range	No.	%	Mean (SD)	Range	No.	%	Mean (SD)	Range
Maternal characteristics																
Year of inclusion																
2002–2003	1,568	48.6			149	37.3			85	48.9			59	51.8		
2004	1,166	36.2			189	47.4			58	33.3			41	36.0		
2005–2006	489	15.2			61	15.3			31	17.8			14	12.3		
District of residence																
Ille et Vilaine	2,010	62.4			238	59.6			106	60.9			72	63.2		
Côtes d'Armor	904	28.0			132	33.1			55	31.6			28	24.6		
Finistère and Morbihan	309	9.6			29	7.3			13	7.5			14	12.3		
Age, years			30.0 (4.3)	16–44			30.0 (4.2)	19–41			30.0 (4.4)	19–42			30.0 (4.2)	21–40
<25	360	11.2			45	11.3			25	14.4			16	14.0		
25–<30	1,286	39.8			145	36.3			57	32.8			46	40.4		
30–<35	1,124	34.9			153	38.4			67	38.5			38	33.3		
≥35	450	14.0			56	14.0			25	14.4			14	12.3		
Unknown	3	0.1			0	0.0			0	0			0	0		
Marital status																
Married or living with partner	3,136	97.3			394	98.8			164	94.3			110	96.5		
Single	82	2.5			4	1.0			10	5.8			4	3.5		
Unknown	5	0.2			1	0.3			0	0.0			0	0.0		
Geographic origin																
European	3,134	97.3			387	97.0			169	97.1			111	97.4		
Non-European	72	2.2			11	2.8			4	2.3			1	0.9		
Unknown	17	0.5			1	0.2			1	0.6			2	1.7		
Education																
Primary/secondary school	604	18.7			78	19.5			47	27.0			26	22.8		
Baccalaureate degree	602	18.7			79	19.8			25	14.4			18	15.8		
Postsecondary education	2,009	62.3			241	60.4			102	58.6			69	60.5		
Unknown	8	0.3			1	0.3			0	0.0			1	0.9		
Employment status during early pregnancy																
Not employed	485	15.0			72	18.0			23	13.2			20	17.5		
Employed	2,733	84.8			327	82.0			151	86.8			94	82.5		
Unknown	5	0.2			0	0.0			0	0.0			0	0.0		

Gestational age at inclusion, weeks			11.7 (2.6)		1–19		11.7 (2.4)		4–18		11.9 [2.4]		5–19		11.7 (2.3)		6–19	
Parity																		
0	1,422	44.1			162	40.6			79	45.4			70	61.4				
1	1,200	37.2			156	39.1			70	40.2			26	22.8				
≥2	590	18.3			81	20.3			25	14.4			17	14.9				
Unknown	11	0.4			0	0			0	0			1	0.9				
Prepregnancy body mass index ^b																		
<18.5	236	7.3			28	7.0			10	5.8			11	9.6				
18.5–<25	2,386	74.0			294	73.7			131	75.3			75	65.8				
25–<30	417	12.9			61	15.3			20	11.5			20	17.5				
≥30	159	4.9			16	4.0			13	7.5			6	5.3				
Unknown	25	0.8			0	0.0			0	0.0			2	1.8				
Hypertension before and/or during pregnancy	176	5.5			21	5.3			26	14.9			30	26.3				
Diabetes before and/or during pregnancy	117	3.6			16	4.0			7	4.0			8	7.0				
Tobacco use in early pregnancy (at inclusion)																		
Nonsmoker	2,281	70.8			285	71.4			113	65.0			79	69.3				
Smoker of ≤10 cigarettes/day	594	18.4			78	19.6			30	17.2			21	18.4				
Smoker of >10 cigarettes/day	311	9.6			33	8.3			31	17.8			11	9.7				
Unknown	37	1.2			3	0.7			0	0.0			3	2.6				
Alcohol consumption in early pregnancy																		
None (abstinent)	2,711	84.1			352	88.2			145	83.3			101	88.6				
Occasional (<1 drink/day)	411	12.8			41	10.3			19	10.9			9	7.9				
Regular (≥1 drink/day)	60	1.9			2	0.5			7	4.0			4	3.5				
Unknown	41	1.3			4	1.0			3	1.7			0	0.0				
Infant characteristics																		
Length of gestation, weeks			39.4 (1.5)		25–42		39.6 (1.1)		37–42		39 (2.3)		26–42		34.4 (2.4)		25–36	
Birth weight, g			3,396 (490)		510–5,580		3,500 (409)		2,610–4,720		2,571 (422)		510–3,150		2,312 (643)		510–4,420	
Male sex	1,624	50.4			198	49.6			87	50.0			63	55.3				

Abbreviation: PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance; SD, standard deviation.

^a Live singleton births without major malformations to mothers who were not occupationally exposed to chlorinated solvents.

^b Weight (kg)/height (m)².

measurements taken directly at the tap in mothers' homes (32–34). Most reports have used proxy measures derived from regulatory measurements of water distribution networks, and the lack of maternal water-use data has prevented investigators from examining specific routes of exposure.

In a recent meta-analysis of published epidemiologic studies, Grellier et al. (35) concluded that there is little or no evidence of associations between DBP exposure measured as total THM exposure during the third trimester of pregnancy and adverse birth outcomes related to fetal growth and prematurity. The one possible exception was smallness for gestational age, for which the pooled risk estimate was nonetheless low (per 10- $\mu\text{g/L}$ increment of total THM exposure, odds ratio (OR) = 1.01, 95% confidence interval (CI): 1.00, 1.02).

Until now, no epidemiologic study of reproductive outcomes has used biomarkers of DBP exposure. THMs are volatile compounds that are rapidly metabolized and/or exhaled following ingestion, inhalation, and dermal contact. Biomarkers of THM exposure measured in blood and exhaled air are difficult to use in field surveys and reflect only very recent exposure. Trichloroacetic acid (TCAA), the second most prevalent haloacetic acid in chlorinated water, persists longer in the body, and urinary TCAA excretion has been shown to be a valid biomarker of TCAA exposure by chronic ingestion of chlorinated drinking water (36–40).

We investigated the association between DBP exposure and the risks of preterm birth and fetal growth restriction (FGR) from data prospectively collected in the PELAGIE (Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance) birth cohort study in Brittany, northwestern France. We included 2 indicators of DBP exposure: maternal urinary TCAA concentrations and estimated THM levels in the water systems serving maternal residences, combined with maternal water use.

MATERIALS AND METHODS

Study population

PELAGIE is a birth cohort including 3,421 pregnant women enrolled from 3 districts of Brittany between 2002 and 2006. Women were recruited in early pregnancy (<19 weeks of gestation) during prenatal care visits to gynecologists, obstetricians, or ultrasonographers, who informed them about the study objective, obtained their written consent to participate, and gave them a self-administered questionnaire to complete at home. It included questions about their social, demographic, and medical characteristics, including obstetric history, educational level, dietary habits, and lifestyle factors (alcohol consumption and tobacco use). They returned it by mail to our laboratory, together with a 20-mL urine sample (first morning void). Samples were sent at ambient temperature and stored at -20°C . The estimated participation rate was 80%, and 3,399 of the women (99.4%) were followed through the end of pregnancy. Information about the pregnancy, the outcome (delivery or medical termination), and the newborn's health status was obtained from midwives, pediatricians, and medical records.

For this study, we restricted the analysis to the 3,226 women who gave birth to singleton live infants without major

malformations. Three women with occupational exposure to perchloroethylene or tetrachloroethylene (known precursors of urinary TCAA) were excluded from the analysis.

Preterm birth and FGR

The midwife or obstetrician assessed gestational age at delivery (in weeks), considering both the date of the last menstrual period and the ultrasound results obtained during pregnancy. Discrepancies were resolved by clinical judgment. Preterm birth was defined as birth occurring before 37 completed weeks of gestation.

The constitutional growth potential (expected birth weight) of the infant was estimated from its gestational age (raw, squared, and cubed) and sex, parity (raw, squared, and cubed), and maternal prepregnancy weight and height, according to the statistical model of Mamelle et al. (41). The model's parameters were estimated for the entire cohort, from the live singleton births without malformations. Babies with a birth weight below the fifth percentile of the cohort's expected birth-weight distribution were considered to have FGR.

According to these definitions, the cohort included 114 (3.5%) preterm babies and 174 (5.4%) babies with FGR (including 18 preterm babies).

Exposure assessment

Estimated levels of THMs in water distribution networks. We identified the water distribution network serving each maternal residence at study inclusion. THM levels in the networks during pregnancy were estimated from the national SISE-Eaux (Système d'Information en Santé-Environnement sur les Eaux) database, a Ministry of Health database which contains regulatory measurements of contaminant levels in French water networks. Since 2004, data on 4 individual THMs (chloroform, bromoform, dibromochloromethane (DBCM), and bromodichloromethane (BDCM)) have been collected routinely in France. Because the frequency of sampling in water networks depends on the size of the population served, monitoring is irregular. Of the 369 networks serving PELAGIE participants, 258 recorded at least 1 THM measurement in 2002–2006.

Women without an identified water network or no THM measurement available ($n = 379$; 11.7%) were not included in the analyses of THM exposure. Among women with THM measurements (2,847 women; 88.3%), 1,938 (68.1%) had at least 1 annual measurement, 1,170 (41.1%) had at least 2 measurements in a year, and 545 (19.1%) had monthly measurements. Mixed hierarchical linear models (42–44) were used to impute missing monthly levels of THMs. Separate models were fitted for each type of water source (groundwater, surface water, or mixed water). In all models, the district was a fixed effect (representing the network's meteorologic and geologic context), and monthly effects were considered fixed over years, since no annual trend was observed. The water network was treated as a random effect. Imputation models were validated with the root mean square error of the estimated environmental THM levels among women with complete data. The root mean square error was 7.4 $\mu\text{g/L}$ for total THM, 1.4 $\mu\text{g/L}$ for bromoform, 4.2 $\mu\text{g/L}$ for chloroform, 1.6 $\mu\text{g/L}$ for DBCM, and 3.3 $\mu\text{g/L}$

Table 2. Mean Levels of Total Trihalomethanes and Trihalomethane Components ($\mu\text{g/L}$) in the 258 Water Distribution Networks Serving Participants in the PELAGIE Cohort, Brittany, France, 2002–2006^a

	% of Water Distribution Networks ^b	% of Mothers' Homes ^c	Total Trihalomethanes	Chloroform	Bromoform	Dibromochloromethane	Bromodichloromethane
All sites			41.6 (16.1) ^d	9.3 (7.0)	8.2 (5.7)	13.8 (5.5)	10.4 (5.4)
Source of water							
Ground water	19.3	14.2	30.1 (15.5)	3.8 (3.2)	10.5 (7.5)	10.4 (6.1)	5.5 (3.7)
Mixed water	32.8	26.8	37.4 (16.3)	8.0 (6.8)	8.4 (5.6)	12.2 (5.3)	9.0 (5.1)
Surface water	47.9	59.1	49.1 (11.8)	12.5 (6.5)	7.0 (4.4)	16.2 (4.0)	13.4 (4.2)
District							
Côtes d'Armor	38.2	28.0	39.1 (16.8)	9.3 (5.9)	7.1 (4.1)	13.1 (5.9)	9.6 (5.7)
Ille et Vilaine	32.8	62.4	44.8 (15.7)	9.4 (7.0)	9.0 (5.8)	15.2 (5.2)	11.3 (5.4)
Finistère	29.0	9.6	41.3 (14.8)	9.3 (8.3)	8.6 (7.0)	13.0 (4.9)	10.4 (4.8)
Season of measurement							
November–March			38.7 (15.4)	9.5 (6.9)	6.7 (4.8)	12.6 (5.2)	10.0 (5.2)
April–June			40.4 (14.7)	8.2 (6.1)	8.0 (4.8)	14.1 (5.2)	10.1 (4.8)
July–October			46.0 (16.8)	9.9 (7.6)	10.0 (6.7)	15.1 (5.7)	11.1 (6.0)

Abbreviations: PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance; SISE-Eaux, Système d'Information en Santé-Environnement sur les Eaux.

^a Data were obtained from the SISE-Eaux database. There were 258 water distribution units with at least 1 measurement during the years 2002–2006. Missing data were imputed with hierarchical linear mixed models.

^b Percentage of the 258 water distribution networks.

^c Percentage of the 2,931 residences with identified water distribution networks.

^d Numbers in parentheses, standard deviation.

for BDCM. Women's average environmental THM levels (defined as the estimated THM levels in their water networks) were estimated by trimester of pregnancy as the time-weighted mean of the THM levels during the months covered by that trimester, separately for each constituent THM and for the sum of all 4 THMs (total THMs).

Individual water-use habits and estimated THM uptake. Exposure to DBPs was estimated for 3 routes: ingestion, inhalation, and dermal absorption. Information about maternal daily water intake and the percentage of bottled water was collected in early pregnancy (inclusion questionnaire). Data on shower and bath habits and swimming pool use were collected from 1,505 participants at the 2-year follow-up after birth, when we asked women about the average frequency and length of their baths and showers during pregnancy and the time they had spent in swimming pools during each trimester. We derived daily uptakes (in $\mu\text{g/day}$) of individual THMs by combining estimated levels in water networks, maternal water use (daily ingested amounts of tap water, tea, and coffee (L/day) and durations of showering/bathing (minutes/day) and swimming in pools (minutes/day)), and uptake factors described elsewhere (45–49). We applied a 0.3 coefficient factor to hot beverages to reflect the reduction in THM concentration due to boiling of water (50). We summed ingestion, showering/bathing, and swimming uptakes to estimate integrated uptake (in $\mu\text{g/day}$).

Urinary biomarker and nested case-control studies. TCAA level was determined in maternal urine collected at study inclusion, according to a case-control design nested in the cohort. A set of 505 controls was randomly selected from the singleton livebirths, excluding babies with major congenital

malformations, preterm birth, FGR, smallness for gestational age, or low birth weight (<2,500 g). Because hydrochloric acid had been used as a stabilizer in the urine sample containers in the early phase of recruitment (until February 2003), TCAA could be analyzed for only 134 cases of FGR (77%), 92 cases of preterm birth (81%), and 399 controls (79%).

Chemical analysis was performed at the Toxicology and Genopathy Laboratory at the Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille (Lille, France), with laboratory workers blinded to case-control status. Urinary TCAA was assayed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. This method, described elsewhere (51), yields a coefficient of variation below 5% at 0.10 mg/L with a detection limit of 0.01 mg/L.

Covariates and statistical analysis

We used unconditional logistic regression models to assess associations between exposure to DBPs and the risks of FGR and preterm birth. Risk factors and potential confounders were identified from the literature. For each outcome, the final model included only covariates that induced a 10% or greater change in estimated exposure-outcome odds ratios for at least one of the exposure measures (bivariate analyses). FGR models included adjustment for marital status, hypertension before or during pregnancy, and smoking and drinking habits. In models for preterm birth, we additionally adjusted for parity and diabetes before or during pregnancy. These covariates were categorical or were categorized as presented in Table 1. For models including TCAA, we adjusted for creatinine level as a continuous variable. Variables measuring exposure to

Table 3. Adjusted Odds Ratios for Fetal Growth Restriction and Preterm Birth According to Third-Trimester Exposure to Total THMs and THM Compounds Among Pregnant Women in the PELAGIE Cohort, Brittany, France, 2002–2006

Exposure Variable	Fetal Growth Restriction				Preterm Birth			
	Yes (n = 171)	No (n = 2,923)	OR ^a	95% CI ^b	Yes (n = 105)	No (n = 2,969)	OR ^c	95% CI ^b
Environmental THM level, µg/L								
Total THMs ^d								
<38	38	646	1	Referent	27	650	1	Referent
38–<48	32	659	0.8	0.5, 1.3	26	659	0.9	0.5, 1.7
48–<56	40	621	1.1	0.7, 1.7	19	643	0.7	0.4, 1.3
≥56	40	620	1.1	0.7, 1.8	18	633	0.7	0.4, 1.3
Chloroform								
<5	35	546	1	Referent	1	552	1	Referent
5–<10	35	717	0.8	0.5, 1.2	23	722	0.7	0.4, 1.2
10–<15	46	714	1.0	0.6, 1.5	19	740	0.5	0.3, 0.9
≥15	34	609	0.9	0.5, 1.4	23	610	0.8	0.4, 1.4
Bromoform								
<5	27	584	1	Referent	1	577	1	Referent
5–<7.5	47	756	1.4	0.8, 2.2	21	777	0.7	0.4, 1.3
7.5–<10	32	516	1.3	0.8, 2.3	21	519	1.0	0.5, 2.0
≥10	44	690	1.4	0.8, 2.3	27	712	1.1	0.6, 2.0
DBCM								
<13	35	663	1	Referent	1	664	1	Referent
13–<15	37	729	1.0	0.6, 1.6	26	742	1.0	0.6, 1.8
15–<18	32	478	1.3	0.8, 2.1	22	484	1.3	0.7, 2.5
≥18	46	716	1.2	0.8, 1.9	20	734	0.8	0.4, 1.5
BDCM								
<9	40	633	1	Referent	1	647	1	Referent
9–<13	35	698	0.8	0.5, 1.2	31	691	1.1	0.7, 2.0
13–<16	37	662	0.9	0.6, 1.4	19	681	0.7	0.4, 1.3
≥16	38	593	1.0	0.6, 1.6	17	605	0.8	0.4, 1.5
Total THM uptake, µg/day								
Total THMs								
<0.351	7	223	1	Referent	1	219	1	Referent
0.351–<0.578	23	292	2.4	1.0, 5.7	11	299	0.9	0.3, 2.5
0.578–<0.940	25	350	2.1	0.9, 5.1	10	361	0.7	0.2, 1.8
≥0.940	14	208	2.0	0.8, 5.1	8	213	0.9	0.3, 2.6
Chloroform								
<0.068	14	253	1	Referent	1	258	1	Referent
0.068–<0.133	17	260	1.1	0.5, 2.3	15	261	1.8	0.7, 4.8
0.133–<0.237	22	309	1.2	0.6, 2.4	7	316	0.7	0.2, 2.1
≥0.237	16	264	1.0	0.5, 2.1	9	268	1.0	0.4, 2.9

Table continues

DBPs were categorized in quartiles. Because no strong evidence supports any critical exposure window, here we present results relative to the third trimester of pregnancy. Results for the other 2 trimesters are shown in Web Tables 1 and 2, which are posted on the *Journal's* Web site (<http://aje.oxfordjournals.org/>).

In a previous analysis of biomarker data conducted within the PELAGIE cohort, Garlantézec et al. (52) found that urinary TCAA was associated with regular occupational exposure to cleaning agents. Therefore, we performed a sensitivity analysis excluding women who had been occupationally exposed to such agents.

Table 3. Continued

Exposure Variable	Fetal Growth Restriction				Preterm Birth			
	Yes (n = 171)	No (n = 2,923)	OR ^a	95% CI ^b	Yes (n = 105)	No (n = 2,969)	OR ^c	95% CI ^b
Bromoform								
<0.057	13	232	1	Referent	1	229	1	Referent
0.057–<0.113	25	388	1.1	0.6, 2.2	8	403	0.5	0.2, 1.3
0.113–<0.205	16	313	0.9	0.4, 1.9	14	312	1.2	0.5, 3.0
≥0.205	15	140	1.8	0.8, 3.9	6	148	0.8	0.2, 2.6
DBCM								
<0.118	10	257	1	Referent	9	253	1	Referent
0.118–<0.188	18	277	1.6	0.7, 3.6	8	282	0.7	0.2, 1.9
0.188–<0.267	18	262	1.7	0.8, 3.8	10	268	0.9	0.3, 2.4
≥0.267	23	290	1.9	0.9, 4.1	11	300	0.8	0.3, 2.2
BDCM								
<0.083	12	271	1	Referent	1	270	1	Referent
0.083–<0.141	17	255	1.5	0.7, 3.2	7	259	0.6	0.2, 1.6
0.141–<0.226	20	289	1.5	0.7, 3.1	12	294	0.9	0.4, 2.2
≥0.226	20	271	1.6	0.8, 3.4	9	280	0.7	0.3, 1.8
Total THM uptake via water use, µg/day								
Water ingestion								
0	21	415	1	Referent	1	416	1	Referent
0–<0.009	42	690	1.2	0.7, 2.0	16	717	0.5	0.2, 1.0
0.009–<0.025	45	735	1.1	0.6, 1.9	28	736	0.8	0.4, 1.6
≥0.025	41	680	1.1	0.6, 1.9	24	690	0.8	0.4, 1.5
Showering/bathing								
<0.32	7	233	1	Referent	1	227	1	Referent
0.32–<0.55	23	327	2.3	1.0, 5.5	13	335	1.0	0.4, 2.6
0.55–<0.90	25	361	2.2	0.9, 5.1	9	371	0.6	0.2, 1.6
≥0.90	16	196	2.5	1.0, 6.3	8	203	0.9	0.3, 2.7
Swimming								
0	58	774	1	Referent	1	793	1	Referent
0–<0.018	6	173	0.5	0.2, 1.1	6	171	0.8	0.3, 1.9
0.018–<0.07	8	167	0.7	0.3, 1.4	1	173	0.1	0.0, 0.9
≥0.07	6	176	0.4	0.2, 1.1	3	174	0.4	0.1, 1.3

Abbreviations: BDCM, bromodichloromethane; CI, confidence interval; DBCM, dibromochloromethane; OR, odds ratio; PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance; THM, trihalomethane.

^a Adjusted for tobacco use, alcohol consumption, hypertension before or during pregnancy, and marital status (3,094 mothers had complete data on these covariates).

^b Wald 95% confidence interval.

^c Adjusted for tobacco use, alcohol consumption, hypertension before or during pregnancy, diabetes before or during pregnancy, marital status, and parity (3,074 mothers had complete data on these covariates).

^d Includes all 4 individual compounds (chloroform, bromoform, DBCM, and BDCM).

All statistical analyses were performed with SAS/STAT software, version 9.2 (SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina).

RESULTS

The analysis included 3,223 women who were aged 30 years on average and were enrolled at 11.7 weeks of

gestation (Table 1). Notable characteristics include their high educational level, European origin, married status, and relatively low levels of smoking and alcohol drinking.

Compared with the overall cohort, mothers of FGR babies were more often single and heavy smokers and had a low educational level and hypertension before or during pregnancy. Mothers of babies born preterm were more often primiparous and had hypertension or diabetes before or during pregnancy.

Relations of environmental THM exposure and water-use habits with FGR and preterm birth

Environmental THM levels. Table 2 presents the estimated THM levels in the water networks serving the cohort. Globally, the total THM level varied from 0.6 µg/L to 157 µg/L, with a mean of 41.6 µg/L (median, 41.7 µg/L; interquartile range, 30.6–52.9). Its average composition was 22% chloroform, 20% bromoform, 33% DBCM, and 25% BDCM.

Mean total THM levels varied according to the type of source, increasing from groundwater to surface water. A high season was observed from July through October and a low season during the winter (November–March). This seasonal variability was highest in surface water. The spatial variability observed between the 3 districts was due to the type of water source; the Ille-et-Villaine district is served almost exclusively by surface water.

The median environmental levels of total THMs in the entire cohort were 48.1 µg/L (range, 3.7–87.1), 47.7 µg/L (range, 6.4–81.6), and 47.6 µg/L (range, 5.6–83.2) for the first, second, and third trimesters, respectively. Adjacent trimesters were highly correlated (Spearman's $r > 0.75$).

Water-use habits. Overall, 40.2% of the women reported drinking only bottled water. Of the women who reported drinking tap water, median ingestion was 0.20 L/day (interquartile range, 0.10–0.40). Most women in Brittany get water from municipal networks (in the follow-up study conducted at 2 years, only 0.7% reported drinking water from private wells). Moreover, 36% reported drinking no coffee or tea; 16.6% reported drinking no coffee, tea, or tap water.

Half of the women reported showering daily, and 61.5% took no baths during their pregnancy. The median duration of bathing was 10 minutes for showers and 20 minutes for baths. During the first trimester, 40.4% of the women reported using swimming pools (44.8% during the second trimester and 40.3% during the third trimester).

Relations between THM exposure and FGR and preterm birth (cohort study). Table 3 shows associations between the risk of FGR or preterm birth and THM exposure during the third trimester of pregnancy. (For first- and second-trimester exposures, see Web Tables 1 and 2.) No clear pattern was found for associations between environmental THM levels and the risk of FGR or preterm birth, except for elevated odds ratios for FGR related to third-trimester bromoform and DBCM levels.

FGR risks doubled in the higher categories of total THM uptake as compared with the lowest, mainly because of increased uptake of DBCM and BDCM, but no clear trend was observed. The association between total THM uptake and FGR risk varied according to exposure route: Uptake from showering and bathing had the highest odds ratios, whereas uptake from swimming was associated with a decreased risk of FGR in each trimester.

For preterm birth, moderately decreased risks were observed for total THM uptake, more marked for uptake via ingestion and swimming, but again with no clear pattern of association. Globally, similar patterns were observed for first- and second-trimester exposures.

Urinary TCAA levels and the risks of FGR and preterm birth (nested case-control studies)

Urinary TCAA levels. TCAA was detected in 6.7% of the 611 maternal urine samples tested for this metabolite. The median TCAA value for these 41 samples was 0.03 mg/L urine (0.02 mg/g urinary creatinine), with a maximum value of 0.63 mg/L (second-highest value = 0.13 mg/L).

Correlations between urinary TCAA and water uptake. Table 4 presents the relations between urinary TCAA levels and daily THM uptake. Neither environmental levels of THM nor their uptake differed meaningfully between women with urinary TCAA levels less than 0.01 mg/L and women with urinary TCAA levels greater than or equal to 0.01 mg/L. When the analysis was restricted to women with detected TCAA, urinary TCAA levels were significantly correlated ($r = 0.32$ – 0.58) with THM ingestion (total THMs and all individual THMs except bromoform).

Relations between urinary TCAA and the risks of FGR and preterm birth. Table 5 shows the results of the nested case-control analyses with DBP exposure measured by urinary TCAA level and by THM ingestion. Detection of TCAA in maternal urine was associated with an increased risk of FGR (OR = 1.8, 95% CI: 0.9, 3.7). When we excluded women with regular occupational exposure to cleaning products ($n = 111$), the odds ratio increased to 2.3 (95% CI: 1.1, 5.2). The odds ratio for preterm birth was below 1 in women with detected TCAA (OR = 0.8, 95% CI: 0.3, 2.6). The exclusion of women regularly exposed to cleaning products weakened the association (OR = 1.1, 95% CI: 0.3, 3.4). Results for total uptake and for ingestion were similar to those observed in the cohort study for first-trimester exposure (time of sample collection).

DISCUSSION

In the PELAGIE cohort, we found an increased risk of FGR associated with estimated total THM uptake (mostly from showering and bathing) during the third trimester of pregnancy, especially with uptake of brominated THMs such as DBCM and BDCM. Exposure was associated with mostly decreased risks of preterm birth. Simultaneously, detectable TCAA in maternal urine in early pregnancy was associated with an increased risk of FGR. To our knowledge, this is the first epidemiologic study relying on a biomarker of exposure to evaluate the impact of prenatal exposure to DBPs on pregnancy outcomes.

Our procedures for estimating THM environmental levels and uptake had several limitations. Monthly environmental THM levels were obtained by modeling spatial and temporal variations of the only DBPs routinely measured in France—4 THMs whose levels were available in a regulatory database. The main parameters considered were water source, seasonal variation, district, and network (random). Information was not available on additional water characteristics, such as organic matter, temperature or pH (5, 53, 54), or variability within the network (44) (between the network and the mother's tap). Seasonal contrast was not very marked in either the observed levels or the estimated levels. The predominance

Table 4. Associations Between Maternal Urinary Trichloroacetic Acid Concentration and Daily Tap Water Intake and Trihalomethane Uptake During the First Trimester of Pregnancy in Nested Case-Control Studies of Fetal Growth Restriction and Preterm Birth ($n = 669$), PELAGIE Cohort, Brittany, France, 2002–2006

	TCAA Level < LOD (<0.01 mg/L) ($n = 570$)		TCAA Level \geq LOD (≥ 0.01 mg/L) ($n = 41$)		P Value ^b	Spearman Correlation With TCAA Among Women With TCAA Levels \geq LOD ^b		
	No. of Women ^a	Mean TCAA Level (SD)	No. of Women ^a	Mean TCAA Level (SD)		No. of Women	r^c	P Value
Total environmental THM exposure, $\mu\text{g/L}$	488	46.0 (13.3)	35	46.7 (16.5)	0.55	35	−0.08	0.64
Daily ingested tap water, L/day	567	0.2 (0.3)	39	0.2 (0.4)	0.88	23	0.55	0.01
Total THM ^d uptake, $\mu\text{g/day}$	238	0.65 (0.36)	20	0.52 (0.24)	0.23	11	0.33	0.32
Total THM uptake via ingestion, $\mu\text{g/day}$	481	0.02 (0.03)	32	0.02 (0.04)	0.97	18	0.57	0.01
Uptake of individual THMs via ingestion, $\mu\text{g/day}$								
Chloroform	484	0.01 (0.02)	33	0.02 (0.03)	0.95	19	0.56	0.01
Bromoform	481	0.002 (0.004)	32	0.003 (0.002)	0.95	18	0.32	0.20
DBCM	484	0.004 (0.005)	33	0.003 (0.004)	0.88	19	0.58	0.01
BDCM	484	0.003 (0.005)	33	0.003 (0.005)	0.97	19	0.54	0.02
Total THM uptake via showering/ bathing, $\mu\text{g/day}$	246	0.61 (0.34)	22	0.50 (0.29)	0.28	22	0.18	0.43
Chloroform uptake via showering/ bathing, $\mu\text{g/day}$	247	0.15 (0.12)	22	0.14 (0.13)	0.57	22	0.35	0.11
Total THM uptake via swimming, $\mu\text{g/day}$	287	0.02 (0.04)	23	0.01 (0.02)	0.07	23	−0.28	0.19

Abbreviations: BDCM, bromodichloromethane; DBCM, dibromochloromethane; LOD, limit of detection; PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance; SD, standard deviation; THM, trihalomethane.

^a Total numbers differ because of missing values for some variables.

^b Two-sided Wilcoxon test for daily ingested THM levels and duration of showers/baths; chi-square test for swimming-pool use.

^c Correlations with uptakes via ingestion were calculated among women who reported drinking tap water.

^d Includes all 4 individual compounds (chloroform, bromoform, DBCM, and BDCM).

of surface water in Brittany means that all women were exposed to THMs. Therefore, the reference category for environmental total THM exposure was wide ($<38 \mu\text{g/L}$) and the contrast between exposure categories was limited. However, the DBP mixture in Brittany and the use of differential uptake factors for brominated THMs and chloroform allowed us to explore exposure to different species of THM, and we observed that exposure to brominated THMs was more strongly associated with FGR risk than was chloroform exposure.

Some information about maternal water use was missing. Water networks were identified only for the mothers' homes, not for their workplaces, although 80% of the mothers were employed. However, 82% of the mothers reported drinking bottled water at the workplace. Information on showering/bathing and swimming habits was available only for women enrolled in the follow-up study. The need for recall might have introduced measurement errors, but there is no reason to believe that they would have been differential. We considered ingestion levels only at the beginning of pregnancy, although some authors have shown substantial variations (increases) in consumption of cold tap water during pregnancy, especially among older mothers (55). We conducted a sensitivity analysis simulating a 25% increase in tap water

intake between the first and second trimesters in this subgroup (using the paper by Forssén et al. (55)) and found that it did not significantly affect the association between total THM uptake and the risks of FGR and preterm birth in our data (results not shown).

The strengths of our study were the prospective collection of urine samples to assess exposure, the use of a customized definition of FGR that took maternal characteristics into account, and the control for major potential confounders, including maternal diseases and lifestyle habits. The percentage of smokers in the PELAGIE cohort was higher than in a recent national survey of parturients (56). By contrast, the rate of women reporting moderate alcohol drinking during pregnancy was lower in our cohort than that observed in another region (57) and indicates possible underreporting of alcohol consumption in our study, which could have caused residual confounding.

Urinary TCAA has previously been proposed as a valid biologic marker of chronic exposure to haloacetic acids in chlorinated water (36–40), and the main innovation of this study was the use of this biomarker in an epidemiologic study. Although several longitudinal studies (37, 39, 40) have found substantial intraindividual variability in urinary TCAA levels, sufficient reliability for use in epidemiologic studies

Table 5. Adjusted Odds Ratios for Fetal Growth Restriction and Preterm Birth According to Urinary Trichloroacetic Acid Concentration and First-Trimester Trihalomethane Ingestion in Nested Case-Control Studies, PELAGIE Cohort, Brittany, France, 2002–2006

	Fetal Growth Restriction				Preterm Birth			
	No. of Cases (<i>n</i> = 171)	No. of Controls (<i>n</i> = 391)	OR ^a	95% CI ^b	No. of Cases (<i>n</i> = 105)	No. of Controls (<i>n</i> = 386)	OR ^c	95% CI ^b
Urinary TCAA								
Not detected	118	368	1	Referent	80	364	1	Referent
Detected (levels ≥ 0.01 mg/L)	14	23	1.8	0.9, 3.7	4	22	0.8	0.3, 2.6
Total THM ^d uptake, $\mu\text{g/day}$								
0	8	40	1	Referent	8	40	1	Referent
0–<0.009	22	42	2.3	0.9, 5.9	11	41	1.1	0.4, 3.3
0.009–<0.025	24	58	1.8	0.7, 4.5	10	57	0.7	0.2, 2.1
≥ 0.025	14	26	2.0	0.7, 5.8	10	26	1.1	0.3, 3.8
Total THM uptake via ingestion, $\mu\text{g/day}$								
0–0.003	30	79	1	Referent	25	78	1	Referent
0.003–<0.011	44	96	1.2	0.7, 2.1	17	96	0.6	0.3, 1.2
0.011–<0.028	37	79	1.0	0.5, 1.8	23	78	0.9	0.4, 1.8
≥ 0.028	38	73	1.2	0.7, 2.3	28	70	1.3	0.7, 2.6
Uptake of individual THMs via ingestion, $\mu\text{g/day}$								
Chloroform								
0–0.001	30	72	1	Referent	23	71	1	Referent
0.001–<0.006	51	112	1.0	0.6, 1.7	24	112	0.7	0.3, 1.5
0.006–<0.015	29	72	0.8	0.4, 1.5	19	71	0.8	0.4, 1.8
≥ 0.015	40	74	1.2	0.7, 2.2	27	71	1.2	0.6, 2.5
Bromoform								
0–0.0003	30	86	1	Referent	23	85	1	Referent
0.0003–<0.0013	58	114	1.4	0.8, 2.4	28	113	0.9	0.5, 1.8
0.0013–<0.0034	37	70	1.4	0.8, 2.6	23	69	1.1	0.5, 2.2
≥ 0.0034	24	57	1.1	0.6, 2.2	19	55	1.3	0.6, 2.7
DBCM								
0–0.0008	34	95	1	Referent	26	94	1	Referent
0.0008–<0.0023	39	84	1.4	0.8, 2.4	15	84	0.7	0.3, 1.5
0.0023–<0.0052	39	77	1.2	0.7, 2.2	26	76	1.2	0.6, 2.3
≥ 0.0052	38	74	1.4	0.8, 2.5	26	71	1.5	0.7, 2.9
BDCM								
0–0.0005	34	95	1	Referent	27	94	1	Referent
0.0005–<0.0016	40	81	1.3	0.7, 2.2	16	81	0.8	0.3, 1.5
0.0016–<0.004	39	80	1.1	0.6, 2.0	22	79	1.0	0.5, 1.9
≥ 0.004	37	74	1.3	0.7, 2.3	28	71	1.5	0.7, 2.8

Abbreviations: BDCM, bromodichloromethane; CI, confidence interval; DBCM, dibromochloromethane; OR, odds ratio; PELAGIE, Perturbateurs endocriniens: Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité, et l'Enfance.

^a Adjusted for tobacco use, alcohol consumption, hypertension before or during pregnancy, and marital status (562 mothers had complete data on these covariates).

^b Wald 95% confidence interval.

^c Adjusted for tobacco use, alcohol consumption, hypertension before or during pregnancy, diabetes before or during pregnancy, marital status, and parity (491 mothers had complete data on these covariates).

^d Includes all 4 individual compounds (chloroform, bromoform, DBCM, and BDCM).

(intraclass correlation coefficient > 0.70) has been achieved with a 2-day measurement (40). Because we collected only

1 urine sample in this study, measurement errors may have occurred. However, they would have been limited by the

categorization of exposure, and they were probably not differential between cases and controls, since the source and volume of water consumed explain intraindividual variability (37). In our case-control study, 5.9% of the controls had urinary TCAA concentrations above the limit of detection (0.01 mg/L). This high limit of detection corresponds roughly to the 70th percentile of the distribution observed in a general US population sample with a different and more sensitive analytical procedure (38). These limitations in our biomonitoring data prevented us from assessing the existence of any dose-response association with the risk of FGR or preterm birth and probably resulted in underestimation of the odds ratio associated with FGR.

Among women with detectable TCAA levels, we found correlations with THM ingestion that were higher than those with THM uptake from showering/bathing or swimming. This is consistent with the likely route of exposure to haloacetic acids (33, 58).

Because part of the urinary TCAA concentration may come from other sources of exposure, we excluded from our analysis the few women with possible occupational exposure to trichloroethylene or tetrachloroethylene, which are metabolized into TCAA. This exclusion, together with the correlations found with THM ingestion, points to chlorinated drinking water as the principal likely source of TCAA in urine in this population. TCAA in urine was also associated with regular occupational use of cleaning agents in our cohort (52). Our sensitivity analysis excluding the women with occupational exposure to cleaning agents reinforced the association between TCAA detection and FGR.

Four previous epidemiologic studies have assessed the relations between pregnancy outcomes and exposure to both haloacetic acids and THMs (20, 22, 23, 27). Wright et al. (20) showed a dose-response association with total THM exposure and a decreased risk of smallness for gestational age with intermediate TCAA exposure. Hoffman et al. (27) found no consistent evidence that exposure to haloacetic acids or THMs during the third trimester of pregnancy was associated with an increased risk of smallness for gestational age, except for very high THM exposures (total THM levels $\geq 80 \mu\text{g/L}$ vs. $< 80 \mu\text{g/L}$). The other 2 studies suggested an increased risk of smallness for gestational age (23) or low birth weight at term (22) in the highest category of haloacetic acid exposure but found smaller and/or inconsistent odds ratios for THM exposure.

Our results for preterm birth are in line with a recent meta-analysis (35) that showed a moderately inverse association between DBPs and duration of gestation (35). At the same time, our results regarding FGR suggest that it is associated with uptake of THMs (especially brominated THMs) and exposure to haloacetic acids during pregnancy. These associations are biologically plausible (6–9, 59). A potential specific impact of bromoform and DBCM exposures suggests the need for additional research. The predictive properties of urinary TCAA as a marker of exposure to haloacetic acids have reduced misclassification error in comparison with previous reports, but TCAA should still be considered a marker for the entire mixture of DBPs. At this stage, the causal agent or agents, if any, remain to be identified.

ACKNOWLEDGMENTS

Author affiliations: INSERM U1085, Institut de Recherches sur la Santé, l'Environnement et le Travail, University of Rennes 1, Institut Fédératif de Recherches 140, Rennes, France (Nathalie Costet, Ronan Garlantézec, Monfort Christine, Florence Rouget, Bertrand Gagnière, Cécile Chevrier, Sylvaine Cordier); Public Health Department, University Hospital Center of Brest, Brest, France (Ronan Garlantézec); “Bien naître en Ile-et-Vilaine” Perinatal Network, Rennes, France (Florence Rouget); and Regional Health Agency of Bretagne, Cellule Interrégionale Epidémiologie, Rennes, France (Bertrand Gagnière).

This work was supported by grants from the French Institute for Public Health Surveillance, the Ministry of Labor, the Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales (DRASS), and the HiWate (Health Impacts of Long-term Exposure to Disinfection By-products in Drinking Water in Europe) project (European Union Sixth Framework Programme for Research and Technological Development of the Research Directorate—Biotechnology, Agriculture, and Food Research Unit) (contract Food-CT-2006-036224).

The authors thank the participating physicians and midwives; Dr. Laurence Labat of the Laboratoire de Toxicologie et Génopathies (Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille) for chemical analysis of urinary trichloroacetic acid; Daniel Marchand of DRASS Bretagne for access to the SISE-Eaux database and extraction of the data; Jacqueline Especel of the Ville de Rennes for making available additional water quality data from Rennes; Dr. Michel Carbon of Université de Rennes 2 and Marc Le Vaillant of the Centre National de la Recherche Scientifique for their help in the statistical modeling of trihalomethane levels; and Jo Ann Cahn for reviewing the manuscript.

Conflict of interest: none declared.

REFERENCES

1. US Environmental Protection Agency. *The Occurrence of Disinfection By-Products (DBPs) of Health Concern in Drinking Water: Results of a Nationwide DBP Occurrence Study*. Washington, DC: Environmental Protection Agency; 2002. (Publication no. EPA/600/R-02/068).
2. Richardson SD, Plewa MJ, Wagner ED, et al. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutat Res*. 2007;636(1–3):178–242.
3. Krasner SW. Chemistry and occurrence of disinfection by-products. In: Craun GF, Hauchman FS, Robinson DE, eds. *Microbiological Pathogens and DBPs in Drinking Water: Health Effects and Management Risks*. Washington, DC: ILSI Press; 2001:61–209.
4. Krasner SW, Westerhoff P, Chen B, et al. Occurrence of disinfection byproducts in United States wastewater treatment plant effluents. *Environ Sci Technol*. 2009;43(21):8320–8325.
5. Sadiq R, Rodriguez MJ. Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review. *Sci Total Environ*. 2004;321(1–3):21–46.
6. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. *Disinfectants and Disinfectant By-Products*.

- (Environmental Health Criteria 216). Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2000.
7. Smith MK, Randall JL, Read EJ, et al. Teratogenic activity of trichloroacetic acid in the rat. *Teratology*. 1989;40(5):445–451.
 8. Saillenfait AM, Langonné I, Sabaté JP. Developmental toxicity of trichloroethylene, tetrachloroethylene and four of their metabolites in rat whole embryo culture. *Arch Toxicol*. 1995;70(2):71–82.
 9. Hunter ES III, Rogers EH, Schmid JE, et al. Comparative effects of haloacetic acids in whole embryo culture. *Teratology*. 1996;54(2):57–64.
 10. Tuthill RW, Giusti RA, Moore GS, et al. Health effects among newborns after prenatal exposure to ClO₂-disinfected drinking water. *Environ Health Perspect*. 1982;46:39–45.
 11. Kanitz S, Franco Y, Patrone V, et al. Association between drinking water disinfection and somatic parameters at birth. *Environ Health Perspect*. 1996;104(5):516–520.
 12. Källén BA, Robert E. Drinking water chlorination and delivery outcome—a registry-based study in Sweden. *Reprod Toxicol*. 2000;14(4):303–309.
 13. Jaakkola JJ, Magnus P, Skrondal A, et al. Foetal growth and duration of gestation relative to water chlorination. *Occup Environ Med*. 2001;58(7):437–442.
 14. Kramer MD, Lynch CF, Isacson P, et al. The association of waterborne chloroform with intrauterine growth retardation. *Epidemiology*. 1992;3(5):407–413.
 15. Bove FJ, Fulcomer MC, Klotz JB, et al. Public drinking water contamination and birth outcomes. *Am J Epidemiol*. 1995;141(9):850–862.
 16. Savitz DA, Andrews KW, Pastore LM. Drinking water and pregnancy outcome in central North Carolina: source, amount, and trihalomethane levels. *Environ Health Perspect*. 1995;103(6):592–596.
 17. Gallagher MD, Nuckols JR, Stallones L, et al. Exposure to trihalomethanes and adverse pregnancy outcomes. *Epidemiology*. 1998;9(5):484–489.
 18. Dodds L, King W, Woolcott C, et al. Trihalomethanes in public water supplies and adverse birth outcomes. *Epidemiology*. 1999;10(3):233–237.
 19. Wright JM, Schwartz J, Dockery DW. Effect of trihalomethane exposure on fetal development. *Occup Environ Med*. 2003;60(3):173–180.
 20. Wright JM, Schwartz J, Dockery DW. The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environ Health Perspect*. 2004;112(8):920–925.
 21. Toledano MB, Nieuwenhuijsen MJ, Best N, et al. Relation of trihalomethane concentrations in public water supplies to stillbirth and birth weight in three water regions in England. *Environ Health Perspect*. 2005;113(2):225–232.
 22. Hinckley AF, Bachand AM, Reif JS. Late pregnancy exposures to disinfection by-products and growth-related birth outcomes. *Environ Health Perspect*. 2005;113(12):1808–1813.
 23. Porter CK, Putnam SD, Hunting KL, et al. The effect of trihalomethane and haloacetic acid exposure on fetal growth in a Maryland county. *Am J Epidemiol*. 2005;162(4):334–344.
 24. Lewis C, Suffet IH, Ritz B. Estimated effects of disinfection by-products on birth weight in a population served by a single water utility. *Am J Epidemiol*. 2006;163(1):38–47.
 25. Infante-Rivard C. Drinking water contaminants, gene polymorphisms, and fetal growth. *Environ Health Perspect*. 2004;112(1):1213–1216.
 26. Aggazzotti G, Righi E, Fantuzzi G, et al. Chlorination by-products (CBPs) in drinking water and adverse pregnancy outcomes in Italy. *J Water Health*. 2004;2(4):233–247.
 27. Hoffman CS, Mendola P, Savitz DA, et al. Drinking water disinfection by-product exposure and fetal growth. *Epidemiology*. 2008;19(5):729–737.
 28. Hoffman CS, Mendola P, Savitz DA, et al. Drinking water disinfection by-product exposure and duration of gestation. *Epidemiology*. 2008;19(5):738–746.
 29. Patelarou E, Kargaki S, Stephanou EG, et al. Exposure to brominated trihalomethanes in drinking water and reproductive outcomes. *Occup Environ Med*. 2011;68(6):438–445.
 30. Yang CY, Cheng BH, Tsai SS, et al. Association between chlorination of drinking water and adverse pregnancy outcome in Taiwan. *Environ Health Perspect*. 2000;108(8):765–768.
 31. Yang CY. Drinking water chlorination and adverse birth outcomes in Taiwan. *Toxicology*. 2004;198(1–3):249–254.
 32. King WD, Dodds L, Armson BA, et al. Exposure assessment in epidemiologic studies of adverse pregnancy outcomes and disinfection byproducts. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2004;14(6):466–472.
 33. Nieuwenhuijsen MJ, Toledano MB, Elliott P. Uptake of chlorination disinfection by-products; a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2000;10(6):586–599.
 34. Arbuckle TE, Hrudey SE, Krasner SW, et al. Assessing exposure in epidemiologic studies to disinfection by-products in drinking water: report from an international workshop. *Environ Health Perspect*. 2002;110(suppl 1):53–60.
 35. Grellier J, Bennett J, Patelarou E, et al. Exposure to disinfection by-products, fetal growth, and prematurity: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology*. 2010;21(3):300–313.
 36. Kim H, Haltmeier P, Klotz JB, et al. Evaluation of biomarkers of environmental exposures: urinary haloacetic acids associated with ingestion of chlorinated drinking water. *Environ Res*. 1999;80(2):187–195.
 37. Froese KL, Sinclair MI, Hrudey SE. Trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to disinfection by-products in drinking water: a human exposure trial in Adelaide, Australia. *Environ Health Perspect*. 2002;110(7):679–687.
 38. Calafat AM, Kuklanyik Z, Caudill SP, et al. Urinary levels of trichloroacetic acid, a disinfection by-product in chlorinated drinking water, in a human reference population. *Environ Health Perspect*. 2003;111(2):151–154.
 39. Bader EL, Hrudey SE, Froese KL. Urinary excretion half life of trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to chlorinated drinking water disinfection by-products. *Occup Environ Med*. 2004;61(8):715–716.
 40. Zhang W, Gabos S, Schopflocher D, et al. Reliability of using urinary and blood trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to chlorinated drinking water disinfection byproducts. *Biomarkers*. 2009;14(6):355–365.
 41. Mamelle N, Cochet V, Claris O. Definition of fetal growth restriction according to constitutional growth potential. *Biol Neonate*. 2001;80(4):277–285.
 42. Snijders TAB, Bosker RJ. *Multilevel Analysis: An Introduction to Basic and Advanced Multilevel Modeling*. London, United Kingdom: Sage Publishers; 1999.
 43. Diggle PJ, Liang KY, Zeger SL. *Analysis of Longitudinal Data*. Oxford, United Kingdom: Clarendon Press; 1994.
 44. Symanski E, Savitz DA, Singer PC. Assessing spatial fluctuations, temporal variability, and measurement error in estimated levels of disinfection by-products in tap water: implications for exposure assessment. *Occup Environ Med*. 2004;61(1):65–72.
 45. Villanueva CM, Gagniere B, Monfort C, et al. Sources of variability in levels and exposure to trihalomethanes. *Environ Res*. 2007;103(2):211–220.

46. Whitaker HJ, Nieuwenhuijsen MJ, Best NG. The relationship between water concentrations and individual uptake of chloroform: a simulation study. *Environ Health Perspect.* 2003;111(5): 688–694.
47. Backer LC, Ashley DL, Bonin MA, et al. Household exposures to drinking water disinfection by-products: whole blood trihalomethane levels. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2000;10(4): 321–326.
48. Lynberg M, Nuckols JR, Langlois P, et al. Assessing exposure to disinfection by-products in women of reproductive age living in Corpus Christi, Texas, and Cobb County, Georgia: descriptive results and methods. *Environ Health Perspect.* 2001; 109(6):597–604.
49. Aggazzotti G, Fantuzzi G, Righi E, et al. Environmental and biological monitoring of chloroform in indoor swimming pools. *J Chromatogr A.* 1995;710(1):181–190.
50. Dodds L, King W, Allen AC, et al. Trihalomethanes in public water supplies and risk of stillbirth. *Epidemiology.* 2004;15(2): 179–186.
51. Dehon B, Humbert L, Devisme L, et al. Tetrachloroethylene and trichloroethylene fatality: case report and simple headspace SPME-capillary gas chromatographic determination in tissues. *J Anal Toxicol.* 2000;24(1):22–26.
52. Garlantézec R, Multigner L, Labat L, et al. Urinary biomarkers of exposure to glycol ethers and chlorinated solvents during pregnancy: determinants of exposure and comparison with indirect methods of exposure assessment. *Occup Environ Med.* Advance access: June 24, 2011. (doi:10.1136/oem.2010. 062315).
53. Rodriguez MJ, Vinette Y, Sérodes JB, et al. Trihalomethanes in drinking water of greater Québec region (Canada): occurrence, variations and modelling. *Environ Monit Assess.* 2003;89(1): 69–93.
54. Mouly D, Joulin E, Rosin C, et al. Variations in trihalomethane levels in three French water distribution systems and the development of a predictive model. *Water Res.* 2010;44(18): 5168–5179.
55. Forssén UM, Wright JM, Herring AH, et al. Variability and predictors of changes in water use during pregnancy. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2009;19(6):593–602.
56. Lelong N, Blondel B, Kaminski M. Smoking during pregnancy in France between 1972 to 2003: results from the national perinatal surveys [in French]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2011;40(1):42–49.
57. de Chazeron I, Llorca PM, Ughetto S, et al. Is pregnancy the time to change alcohol consumption habits in France? *Alcohol Clin Exp Res.* 2008;32(5):868–873.
58. Weisel CP, Kim H, Haltmeier P, et al. Exposure estimates to disinfection by-products of chlorinated drinking water. *Environ Health Perspect.* 1999;107(2):103–110.
59. Ghantous H, Danielsson BR, Dencker L, et al. Trichloroacetic acid accumulates in murine amniotic fluid after tri- and tetrachloroethylene inhalation. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh).* 1986;58(2):105–114.

Effets sanitaires de l'exposition aux sous-produits de chloration de l'eau *Health effects of exposure to water disinfection by-products*

Résumé

Contexte : La chloration est le traitement le plus utilisé pour désinfecter l'eau distribuée à la population. Lors du traitement, des sous-produits de chloration (SPCs) se forment par réaction de la matière organique naturelle présente dans l'eau avec le chlore. Les produits les plus présents sont les trihalométhanes (THMs), les acides haloacétiques (HAAs). Des études toxicologiques (animales et in vitro) ont montré la génotoxicité et/ou carcinogénicité et la reprotoxicité de certains SPCs. Nous avons mené deux études évaluant les effets sur la santé humaine de l'exposition aux SPCs, dans le domaine du cancer et de la reproduction.

Association entre exposition aux THMs et risque de cancer de la vessie : une analyse poolée de 3 études cas-témoins européennes : Cette analyse a inclus 2381 cas et 3086 témoins issus de 3 études cas-témoins (France, Espagne, Finlande). L'exposition environnementale aux SPCs a été mesurée par la concentration en THMs estimée rétrospectivement dans les réseaux de distribution d'eau au cours des 40 années de la fenêtre d'exposition. Les usages de l'eau connus sont l'ingestion, les douches et les bains, la fréquentation de piscine (étude espagnole seulement). Une relation croissante a été observée entre le niveau environnemental de THMs, la durée d'exposition à une eau de surface chlorée et le risque de cancer de la vessie, chez les hommes uniquement. Aucune association n'a été observée avec l'exposition via l'ingestion d'eau du robinet. L'exposition via les douches, les bains et la piscine est apparue liée au risque de cancer de la vessie. Trois études cas-témoins nord-américaines ont été intégrées dans une méta-régression. Aucune spécificité européenne de la relation dose-réponse n'a été mise en évidence. Une relation dose-réponse globale incluant 4351 cas et 7055 témoins a été estimée.

Association entre exposition aux SPCs et risque de prématurité et de retard de croissance intra-utérin (RCIU) : Cette étude est issue de la cohorte bretonne Pélagie (3400 femmes enceintes recrutées en début de grossesse entre 2002 et 2006). L'exposition pendant la grossesse a été mesurée à l'aide de 2 indicateurs : la concentration en THMs de l'eau distribuée dans les réseaux et le dosage d'un biomarqueur urinaire (acide trichloroacétique) pour un sous-échantillon de femmes (étude cas-témoins nichée). Les niveaux dans les réseaux proviennent de la base de données réglementaire SISE-Eaux. Les usages de l'eau du robinet par les femmes pendant la grossesse ont été collectés par questionnaire (quantité d'eau du robinet bue, fréquentation de la piscine, fréquence et durée des douches et des bains). Notre étude suggère une association entre l'exposition prénatale aux SPCs et le risque de RCIU. Aucune association n'est observée avec le risque de prématurité.

Mots-clés : Épidémiologie; eau chloration; sous-produits de chloration ; trihalométhanes ; acide trichloroacétique ; cancer étiologie ; vessie; croissance fœtale; grossesse durée

Abstract

Background: Chlorine is the most widely used disinfectant for drinking water treatment. During treatment process, the natural organic matter present in water reacts with chlorine to form disinfection by-products (DBPs), such as trihalomethanes (THMs) and haloacetic acids (HAAs), the most occurring ones. Several identified DBPs were recognized carcinogens or fetotoxic in animals. We conducted two epidemiological studies to assess the health effects of human exposure to DBPs regarding cancer and reproduction.

Association between THM exposure and the risk of bladder cancer: a pooled analysis of 3 European case-control studies: The study included 2381 cases and 3086 controls from 3 case-control studies (France, Finland, Spain). Environmental exposure to SPCs was measured by THM concentrations in water distribution systems, retrospectively estimated through the 40-year exposure window. Information about water uses (tap water ingestion, showers and baths, swimming-pool attendance) was available. An increased risk of bladder cancer was observed, in men only, with increasing THM concentrations in water systems and duration of exposure to chlorinated surface water. No association was observed with exposure through tap water ingestion. Exposure through showers, baths and swimming in pools (available in Spanish study only) was associated with an increased risk of bladder cancer. Three North-American case-control studies were joined to the three European ones into a meta-regression. No specific dose-response relationship was identified for European studies. A global dose-response relationship was consequently estimated, including 4351 cases and 7055 controls.

Association between DBP exposure and the risk of preterm birth and Intra-Uterine Growth Retardation (IUGR): This study was conducted within the PELAGIE cohort (3400 pregnant women included in early pregnancy, in Brittany, France, between 2002 and 2006). Exposure during pregnancy was measured by 2 indicators: THM concentrations in water distribution systems and a biomarker of HAA ingestion, the level of trichloroacetic acid in maternal urine at inclusion (nested case-control study). The regulatory database SISE-Eaux was used to estimate THM concentrations in the water distribution systems. Water uses during pregnancy (ingested tap water, swimming-pool attendance, showers and bath frequencies and duration) were collected with questionnaires. Our results suggest an association between prenatal exposure to DBPs (THMs and HAAs) and the risk of IUGR. No association was found with the risk of preterm birth.

Key-words : Epidemiology; water chlorination; disinfection by-products; trihalomethanes ; trichloroacetic acid ; bladder cancer; foetal growth; length of gestation